

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Grado en Ingeniería Química

**LIBERACIÓN DE BACTERIÓFAGOS DESDE SISTEMAS DE
FIBRAS COAXIALES AUTODEGRADABLES**



Memoria y Anexos

Autor:	Carlo Ascón Sánchez
Director:	Aurelio Calvet Tarragona
Co-Director:	Luis Javier del Valle Mendoza
Convocatoria:	Mayo 2018

Resum

Actualment, la resistència dels bacteris als antibiòtics ha provocat que les autoritats sanitàries tractin de trobar una solució que doni resposta a una de les amenaces més preocupants per a la salut pública mundial. Per aquest motiu, recentment se li està donant major interès al treball desenvolupat pel microbiòleg Félix Hubert d'Herelle, qui va descobrir als bacteriòfags, també coneguts com a fags. Els fags són virus que infecten exclusivament als bacteris i parasiten la seva maquinària enzimàtica. Una possible via d'aplicació biomèdica d'aquestes entitats seria mitjançant matrius polimèriques biodegradables, que es caracteritzen per la seva compatibilitat amb els teixits biològics i perquè la seva degradació ocorre transcorregut un temps des de la seva implantació en ells.

En aquest projecte s'ha estudiat l'obtenció mitjançant electrofilat de fibres coaxials compostes d'un nucli de polietilenglicol (PEG) incorporant als bacteriòfags, envoltats en una coberta de microfibras d'àcid polilàctic (PLA) amb la incorporació de l'enzim Lipasa, per a la posterior degradació d'aquesta, que permetrà l'alliberament dels fags en el medi a tractar.

S'han estudiat i optimitzat tots els paràmetres operacionals tant per l'electrofilat uniaxial (PEG, PLA), com per a les diferents matrius de fibres coaxials obtingudes. Posteriorment, totes les matrius van ser caracteritzades morfològicament per microscopia electrònica d'escombratge (SEM).

Per al polímer de la coberta, l'àcid polilàctic, s'ha realitzat un estudi de la degradació afegint-li la Lipasa durant 7 dies comparant-ho amb dos dissolvents diferents, HFIP i Cloroform, obtenint un major grau de degradació en el cas del primer dissolvent.

En el cas de les matrius coaxials, també es va observar mitjançant SEM les modificacions estructurals de les fibres després de la seva immersió en aigua per analitzar la seva morfologia i les distribucions que mostraven els seus diàmetres. També s'ha estudiat el percentatge de PEG remogut després d'incubar les matrius en aigua calculant la pèrdua de massa. A més, totes les fibres obtingudes han estat avaluades qualitativament mitjançant FTIR per a l'anàlisi de la seva composició química.

Finalment, s'ha estudiat la incorporació dels bacteriòfags en microfibras de PEG envoltats en PLA afegint-hi Lipasa. Els resultats obtinguts, demostren que no és possible degradar la coberta utilitzant en la mescla de dissolvents Cloroform/Acetona l'última, ja que aquesta fa que la Lipasa redueixi notablement la seva activitat enzimàtica. Pel que fa al nucli, s'ha demostrat que es poden incorporar els bacteriòfags al PEG obtenint una xarxa de microfibras coaxials compacta. A més, l'estudi de l'alliberament dels fags a les 8 hores induïx a pensar que aquests mantenen la seva activitat antibacteriana, però faltaria confirmar els resultats realitzant un estudi més prolongat del cultiu bacterià.

Resumen

Actualmente, la resistencia de las bacterias a los antibióticos ha provocado que las autoridades sanitarias traten de hallar una solución que dé respuesta a una de las amenazas más preocupantes para la salud pública mundial. Por este motivo, recientemente se le está prestando mayor interés al trabajo desarrollado por el microbiólogo Félix Hubert d'Herelle, quien descubrió a los bacteriófagos, también conocidos como fagos. Los fagos son virus que infectan exclusivamente a las bacterias y parasitan su maquinaria enzimática. Una posible vía de aplicación biomédica de estas entidades sería mediante matrices poliméricas biodegradables, que se caracterizan por su compatibilidad con los tejidos biológicos y porque su degradación ocurre transcurrido un tiempo desde su implantación en ellos.

En este proyecto se ha estudiado la obtención mediante electrohilado de fibras coaxiales compuestas de un núcleo de polietilenglicol (PEG) incorporando a los bacteriófagos, envuelto en una cubierta de microfibras de ácido poliláctico (PLA) con la incorporación de la enzima Lipasa, para la posterior degradación de ésta, que permitirá la liberación de los fagos en el medio a tratar.

Se han estudiado y optimizado todos los parámetros operacionales tanto para el electrohilado uniaxial (PEG, PLA), como para las distintas matrices de fibras coaxiales obtenidas. Posteriormente, todas las matrices fueron caracterizadas morfológicamente por microscopía electrónica de barrido (SEM).

Para el polímero de la cubierta, el ácido poliláctico, se ha hecho un estudio de la degradación añadiéndole la Lipasa durante 7 días comparándolo con dos disolventes diferentes, HFIP y Cloroformo, obteniendo un mayor grado de degradación en el caso del primer disolvente.

En el caso de las matrices coaxiales, también se observó mediante SEM las modificaciones estructurales de las fibras después de su inmersión en agua para analizar su morfología y las distribuciones que mostraban sus diámetros. Se ha estudiado también el porcentaje de PEG removido después de incubar las matrices en agua calculando la pérdida de masa. Además, todas las fibras obtenidas han sido evaluadas cualitativamente mediante FTIR para el análisis de su composición química.

Finalmente, se ha estudiado la incorporación de los bacteriófagos en microfibras de PEG envueltos en PLA añadiéndoles Lipasa. Los resultados obtenidos, demuestran que no es posible degradar la cubierta utilizando en la mezcla de disolventes Cloroformo/Acetona la última, ya que ésta hace que la Lipasa reduzca notablemente su actividad enzimática. En cuanto al núcleo, se ha demostrado que se pueden incorporar los fagos al PEG obteniendo una red de microfibras coaxiales compacta. Además el estudio de la liberación de los fagos a las 8 horas induce a pensar que éstos mantienen su actividad antibacteriana, pero faltaría confirmar los resultados realizando un estudio más prolongado del cultivo bacteriano.

Abstract

Currently, the resistance of bacteria to antibiotics has caused health authorities to try to find a solution that responds to one of the most worrisome threats to global public health. For this reason, the work developed by the microbiologist Félix Hubert d'Herelle, who discovered bacteriophages also known as phages, is recently being given greater interest. Phages are viruses that infect only bacteria and parasitize their enzymatic machinery. A possible way of biomedical application of these entities would be using biodegradable polymer scaffolds, which are characterized by their compatibility with biological tissues and because its degradation occurs after some time since its implantation in them.

In this project, the obtention of coaxial electrospinning scaffolds composed of a core of polyethylene glycol (PEG) incorporating the bacteriophages, wrapped in a microfibers cover of polylactic acid (PLA) with the incorporation of the enzyme Lipase, for subsequent degradation of it, allowing the realease of phages in the media has been studied.

All the operational parameters have been studied and optimized both for uniaxial electrospinning (PEG, PLA) as well as for the different scaffolds obtained constituted by coaxial fibers. Subsequently, all scaffolds were characterized morphologically by scanning electron microscopy (SEM).

For the polymer of the cover, the polylactic acid, a study of its degradation has been made by the addition of the Lipase in two different solvents, HFIP and Chloroform, during 7 days and comparing the results, a greater degree of degradation in the case of the first solvent has been obtained.

In the case of coaxial scaffolds, structural modifications of the fibers were also observed by SEM after the immersion in water of the samples to analyze their morphology and the distributions that showed their diameters. The percentage of PEG removed after incubating the scaffolds in water was also evaluated by calculating the mass loss. In addition, all the fibers obtained have been evaluated qualitatively by FTIR for the analysis of their chemical composition.

Finally, the incorporation of bacteriophages in PEG microfibers wrapped in PLA adding Lipase has been studied. The results obtained show that it is not possible to degrade the cover using in the chloroform/acetone mixture of solvents the latter, since this makes the Lipase significantly reduce its enzymatic activity. As for the core, it has been shown that phages can be incorporated into the PEG obtaining a compact coaxial microfiber network. In addition, the study of phage release at 8 hours suggests that they maintain their antibacterial activity, but it would be necessary to confirm the results by carrying out a longer study of the bacterial culture.

Agradecimientos

En primer lugar, quisiera agradecer al Dr. Luis Javier del Valle, todo el esfuerzo, dedicación y paciencia por todos los conocimientos que me ha transmitido a lo largo del proyecto. En distintas ocasiones, cuando el tiempo no jugaba de mi parte, él ha sido quien me ha dado la tranquilidad y el optimismo necesario para tirar esto adelante.

En segundo lugar, me gustaría dar las gracias por toda la ayuda prestada a mi tutor Aureli Calvet. Gracias por tu infinita paciencia en todas las dudas planteadas en un momento u otro y por la guía en el camino que debía adoptar durante el trabajo.

Especialmente dar las gracias a mi compañera de trabajo Alicia Díaz. Creo que no hay persona que pueda entender mejor el carrusel de emociones vivido durante el proyecto que ella. Gracias por toda la ayuda y el apoyo durante el transcurso del trabajo, sin ti este proyecto no hubiera sido posible.

También quisiera agradecer al Dr. Jordi Puiggalí la oportunidad de realizar el proyecto dentro del departamento de Polímeros. También quisiera agradecer la colaboración directa en algún momento de la parte experimental a la Dra. Lourdes Franco (microscopía óptica). Agradecer el buen ambiente de todos los compañeros en el laboratorio durante el trabajo.

Finalmente, pero no menos importante, agradecer todo el apoyo incondicional de mi familia. Gracias por todos los consejos que me habéis dado. A mi pareja Raquel, por ayudarme en la toma de decisiones y por estar ahí siempre.

Glosario

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AIBN: Azobisisobutironitrilo

ARN: Ácido ribonucleico

ASTM: American Society for Testing and Materials

BHI: Brain Heart Infusion

FDA: Administración de alimentos y medicamentos

FIB: Focused Ion Beam

FTIR: Espectroscopia de infrarrojos por transformada de Fourier

HFIP: Hexafluoro-2-propanol

OM: Microscopio óptico

PBS: Buffer fosfato salino

PEG: Polietilenglicol

PEO: Óxido de polietileno

PHA: Polihidroxialcanoatos

PLA: Ácido poliláctico

PM: Peso molecular

PVDF: Polifluoruro de vinilideno

SBS: Estireno-Butadieno-Estireno

SEM: Microscopia electrónica de barrido

TFG: Trabajo Final de Grado

UCR: Unidades repetitivas covalentemente



Objetivos y contenido del trabajo

- Objetivo general del proyecto

El objetivo general de este Trabajo de Final de Grado fue obtener mediante electrohilado, fibras coaxiales compuestas de un núcleo de microfibras de polietilenglicol (PEG) con la incorporación de bacteriófagos, envuelto en una cubierta de microfibras de ácido poliláctico (PLA) con la incorporación de enzimas, para la posterior degradación de ésta, que permitirá la liberación de los fagos en el medio a tratar.

- Objetivos específicos del proyecto

Para poder realizar el objetivo general del TFG se han planteado los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar los parámetros operacionales más adecuados para el electrohilado uniaxial del PEG (núcleo) y del PLA (cubierta).
2. Caracterizar las matrices obtenidas morfológicamente y determinar el diámetro de las fibras uniaxiales de PEG y PLA producidas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM).
3. Producir fibras de PEG cargadas con bacteriófagos y determinar su actividad antibacteriana cualitativamente mediante el ensayo de inhibición del crecimiento bacteriano en placas de agar.
4. Evaluar la degradación presente en las fibras de ácido poliláctico bajo condiciones operacionales adecuadas por la adición de la enzima Lipasa con distintos disolventes (Cloroformo y HFIP).
5. Establecer las condiciones idóneas para la producción de matrices de fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta. Para ello, se prepararán cuatro *scaffolds*:
 - Matriz 1: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta.
 - Matriz 2: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo cargado con fagos y PLA en la cubierta.
 - Matriz 3: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA añadiéndole la Lipasa en la cubierta.
 - Matriz 4: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo cargado con fagos y PLA en la cubierta añadiéndole Lipasa.
6. Seleccionar las cuatro matrices de fibras coaxiales mediante microscopia óptica. Además, estas se caracterizarán morfológicamente antes y después de incubarlas en agua mediante SEM. En todas ellas, se evaluará la pérdida de peso de las matrices después de su inmersión en agua para el cálculo del porcentaje de PEG removido.

7. Analizar la composición química de las fibras uniaxiales (PEG y PLA) y coaxiales mediante la espectroscopia de radiación infrarroja (FTIR).
8. Evaluar el crecimiento de la bacteria *Staphylococcus Aureus* cuantitativamente mediante la turbidez, la cual está ligada directamente con la concentración de las bacterias.

Índice

RESUM	I
RESUMEN	II
ABSTRACT	III
AGRADECIMIENTOS	IV
GLOSARIO	V
OBJETIVOS Y CONTENIDO DEL TRABAJO	VI
- Objetivo general del proyecto	vi
- Objetivos específicos del proyecto	vi
1. POLÍMEROS	1
1.1. Historia	1
1.2. Clasificación	2
1.2.1. Según su origen:.....	2
1.2.2. Según sus propiedades mecánicas y térmicas	2
1.2.3. Según la forma de la cadena polimérica	3
1.2.4. Según la disposición de las unidades repetitivas	4
1.2.5. Según la naturaleza química de su síntesis.....	5
1.3. Polímeros biodegradables.....	7
1.3.1. Clasificación.....	8
1.3.2. Factores para medir la biodegradación en los polímeros	8
1.3.3. Ácido poliláctico (PLA)	9
1.3.4. Polietilenglicol (PEG)	12
2. ENZIMAS	13
3. BACTERIÓFAGOS	14
4. ELECTROSPINNING	16
4.1. Historia	16
4.2. Principios de la técnica	17
4.2.1. Setup	17
4.3. Parámetros de la técnica	18
4.4. Aplicaciones Electrospinning.....	24
4.4.1. Aplicaciones Biomédicas	24

7.4.1.1	Ingeniería de tejidos de <i>Scaffolds</i>	24
7.4.1.2	Protección de heridas	25
4.4.2.	Aplicaciones electrónicas y energéticas.....	27
4.4.3.	Aplicaciones ambientales	29
4.4.4.	Aplicaciones de sensores.....	30
4.5.	Electrospinning coaxial.....	30
4.5.1.	Setup.....	31
5.	MATERIALES Y MÉTODOS EXPERIMENTALES	32
5.1.	Reactivos	32
5.2.	Disolventes.....	32
5.3.	Material de laboratorio	32
5.4.	Equipos y técnicas experimentales	33
5.4.1.	Electrospinning uniaxial/coaxial	33
5.4.2.	Microscopía óptica (OM)	35
5.4.3.	Microscopio electrónico de barrido (SEM)	37
5.4.4.	Inhibición del crecimiento bacteriano	37
5.4.5.	Espectroscopia de infrarrojo (IR).....	40
6.	FIBRAS DE POLIETILENGLICOL (PEG) EN AGUA	42
6.1.	Metodología.....	42
6.2.	Análisis y discusión de resultados	44
7.	FIBRAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO (PLA)	48
7.1.	Metodología.....	48
7.2.	Análisis y discusión de resultados	48
8.	FIBRAS DE ÁCIDO POLILÁCTICO (PLA) CON LA INCORPORACIÓN DE LA ENZIMA LIPASA	55
8.1.	Metodología.....	55
8.2.	Análisis y discusión de resultados	56
9.	INTENTO DE FIBRAS COAXIALES PEGC-PLAS	65
9.1.	Metodología.....	65
9.2.	Análisis y discusión de resultados	65
10.	FIBRAS COAXIALES PEGC-PLAS	69
10.1.	Metodología.....	69
10.2.	Análisis y discusión de resultados	69

10.2.1. Matriz 1: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta.	69
10.2.2. Matriz 2: Fibras coaxiales de PEG cargado con fagos en el núcleo y PLA en la cubierta.	74
10.2.3. Matriz 3: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta con la adición de Lipasa.....	79
10.2.4. Matriz 4: Fibras coaxiales de PEG cargado con fagos y PLA en la cubierta con la adición de Lipasa.....	86
10.2.5. Caracterización fisicoquímica de las fibras mediante FTIR	92
10.2.6. Actividad antibacteriana de las fibras coaxiales cargadas con bacteriófagos.....	94
11. ESTUDIO DEL IMPACTO AMBIENTAL	97
12. EVALUACIÓN ECONÓMICA	100
12.1. Costes de personal.....	100
12.2. Coste de materiales	100
12.3. Coste de equipos.....	101
12.4. Coste total del proyecto	102
13. CONCLUSIONES	103
BIBLIOGRAFÍA	105
ANEXO I	108
ANEXO II: FICHAS DE SEGURIDAD	111

1. Polímeros

Un polímero es una sustancia química cuyas moléculas son grandes y consisten en pequeñas unidades repetitivas (UCR) covalentemente unidas que se repiten de manera más o menos ordenada. Estas moléculas grandes pueden ser lineales, ligeramente ramificadas, o altamente interconectadas.

Las pequeñas moléculas que componen las macromoléculas también se conocen como monómeros. Los polímeros pueden estar constituidos de un tipo de monómero, dando lugar a los homopolímeros, o de varios tipos de monómeros, los cuales se denominan como copolímeros. Para que una molécula pueda generar un polímero, es necesario que su funcionalidad sea igual o superior a dos, es decir que tenga dos o más grupos funcionales que puedan reaccionar [1], [2]. Cuando los polímeros se sintetizan a partir de monómeros que tienen dos grupos funcionales se obtienen polímeros lineales. Sin embargo, si los monómeros tienen dos o más grupos funcionales se forman polímeros ramificados o entrecruzados.

1.1. Historia

Dado que la mayoría de los químicos, bioquímicos e ingenieros químicos están involucrados de una manera u otra en alguna fase de la ciencia o en la tecnología de los polímeros, algunos han llamado a esta como la edad del polímero. La palabra polímero proviene de los términos griegos “poly” (muchos) y “meros” (partes). Muchos científicos, prefieren usar la palabra macromolécula o la de moléculas grandes en lugar de polímeros. Otros simplemente nombran a estas moléculas grandes como moléculas gigantes. Pese a todo esto, los mismos principios se aplican a todos los polímeros indistintamente de su uso final. Las diferencias entre los polímeros se determinan principalmente por las fuerzas intermoleculares e intramoleculares entre las moléculas y dentro de la molécula individual, por los grupos funcionales presentes y, sobre todo, por su tamaño.

Había habido poco progreso en la química orgánica hasta que Wohler sintetizó urea a partir de compuestos inorgánicos en 1828. A pesar de este avance, poco progreso se hizo en la comprensión de compuestos orgánicos hasta la década de 1850, cuando August Kekulé desarrolló la técnica para escribir fórmulas estructurales. Sin embargo, los científicos de polímeros hicieron descubrimientos empíricos antes de que se desarrollase la ciencia.

Uno de ellos fue Charles Goodyear, quién haciendo experimentos en una fábrica de Massachussets en 1839, arrojó caucho mezclado con azufre en una estufa caliente y el caucho en lugar de derretirse, se carbonizó. Había descubierto la vulcanización. El caucho ganó importancia mundial con la invención del neumático con cámara por John Dunlop en 1888. Ese mismo siglo, hubo descubrimientos

importantes tales como la nitrocelulosa en 1846 por Christian Schönbein o la dinamita, inventada por Alfred Nobel en 1866.

Años más tarde, en Nueva York, Leo Baekeland en 1907 anunció la creación de la primera sustancia plástica totalmente sintética mediante la síntesis del fenol y el formaldehído, a la que denominó como baquelita. En mayo de 1920, Staudinger propuso que el caucho y otros polímeros como la celulosa y las proteínas son largas cadenas de unidades moleculares repetitivas, acuñando el término de “macromolécula” y asentando las bases de la polimerización. A lo largo de los años posteriores, fueron surgiendo descubrimientos como el de Wallace Hume Carothers, líder del grupo en los laboratorios de los experimentos de Dupont, quién fue el primero en desarrollar el nailon en 1933 y lo patentó en 1938. Después de él, muchos científicos hicieron descubrimientos importantes en el campo de los polímeros que les valió para obtener el Premio Nobel [3].

El desarrollo incesante de nuevos materiales, tecnologías para diferentes usos y aplicaciones no deja de crecer. Esto provoca que cada vez haya más aplicaciones en las cuales se ven relacionados los polímeros y gracias a ello, estos no dejan de estudiarse tanto para su investigación como para su comercialización.

1.2. Clasificación

1.2.1. Según su origen:

Polímeros naturales: se obtienen de la naturaleza o por fuentes naturales como animales y plantas. Algunos ejemplos son las proteínas, el caucho, el almidón, la celulosa, etc.

Polímeros semisintéticos: se obtienen mediante modificaciones químicas a polímeros de origen natural.

Polímeros sintéticos: son los polímeros obtenidos en los laboratorios. El polietileno, poliestireno o el nailon forman parte de este grupo.

1.2.2. Según sus propiedades mecánicas y térmicas

- A. Termoestables: un plástico termoestable se solidifica irreversiblemente cuando se calienta. Los termoestables no pueden ser reformados por calentamiento. Generalmente son polímeros que poseen la estructura de una red tridimensional en los que existe un alto grado de reticulación en las cadenas de polímero. La reticulación restringe el movimiento de las cadenas y conduce a un material rígido.

- B. Termoplásticos: son polímeros cuyas moléculas se mantienen unidas por fuerzas intermoleculares relativamente débiles de modo que el material se puede moldear cuando se expone al calor y luego vuelve a su estado original cuando se enfría. La mayoría de los polímeros lineales y ligeramente ramificados son termoplásticos y además son de un alto peso molecular. Dentro de este grupo, se dividen en:
 - a. Amorfos: Las cadenas de polímeros con ramas o grupos colgantes que no pueden agruparse regularmente para formar cristales se denominan amorfos. Las regiones amorfas de un polímero están formadas por cadenas enroscadas y enrolladas al azar. Generalmente estos polímeros son más blandos y tienen puntos de fusión más bajos que sus homólogos cristalinos.
 - b. Semicristalinos: Este tipo de polímeros tienen regiones tanto cristalinas como amorfas. La semicristalinidad es una propiedad que se desea para la mayoría de los plásticos ya que combina la resistencia de los polímeros cristalinos con la flexibilidad de los amorfos. Estos polímeros pueden ser duros con la capacidad de doblarse sin romperse.
- C. Fibras: Materiales capaces de orientarse para formar filamentos largos y delgados como el hilo. Poseen una gran resistencia a lo largo del eje de orientación, tal como ocurre con el algodón, la lana y la seda. Tienen su principal aplicación en la industria textil.
- D. Elastómeros: Los elastómeros se caracterizan por una estructura desorganizada en estado de reposo o no deformado. La aplicación de tensión se acompaña de una distorsión fácil que requiere poca tensión para producir la distorsión. Los enlaces cruzados covalentes aseguran que el elastómero volverá a su configuración inicial cuando se elimine la tensión aplicada. Generalmente son termoestables, aunque hay elastómeros termoplásticos como el SBS.

1.2.3. Según la forma de la cadena polimérica

- A. Lineales: es el polímero más simple el cual no tienen ramificaciones. Un polímero lineal es simplemente una cadena en la que todos los monómeros existen en una sola línea.
- B. Ramificados: estos polímeros se producen cuando existen cadenas más o menos largas desde la cadena principal del polímero. Estas cadenas se conocen como cadenas laterales y también pueden ser grupos muy largos de estructuras repetitivas. Los polímeros ramificados, se pueden clasificar también por la forma en que se ramifican desde la cadena principal. Los polímeros con muchas ramas se conocen como dendrímeros, y estas moléculas pueden formar una red cuando se enfrían.

- C. Reticulados: este polímero forma cadenas largas, ramificadas o lineales, que pueden formar enlaces covalentes entre las moléculas del primero. Debido a que los polímeros reticulados forman enlaces covalentes que son mucho más fuertes que las fuerzas intermoleculares que atraen a otras cadenas de polímeros, el resultado es un material más fuerte y más estable.

1.2.4. Según la disposición de las unidades repetitivas

- A. Homopolímero: polímero constituido por la repetición de un único monómero y pueden presentarse en cadenas lineales, ramificadas o reticuladas.
- B. Copolímeros: son aquellos donde hay presente dos o más clases de monómeros, dispuestos al azar, alternadamente, en bloques o siendo injertados en una cadena principal.
- Alternante: las unidades repetitivas se disponen de forma alterna regular.
 - Al azar: este tipo de copolímeros contiene unidades repetitivas organizadas de forma puramente aleatoria.
 - En bloque: son aquellos que contienen largas secuencias de la misma unidad de monómero a lo largo de la columna vertebral.
 - De injerto: ocurre cuando a una cadena de polímero del monómero A se le ramifica otra cadena formada por otro monómero B.

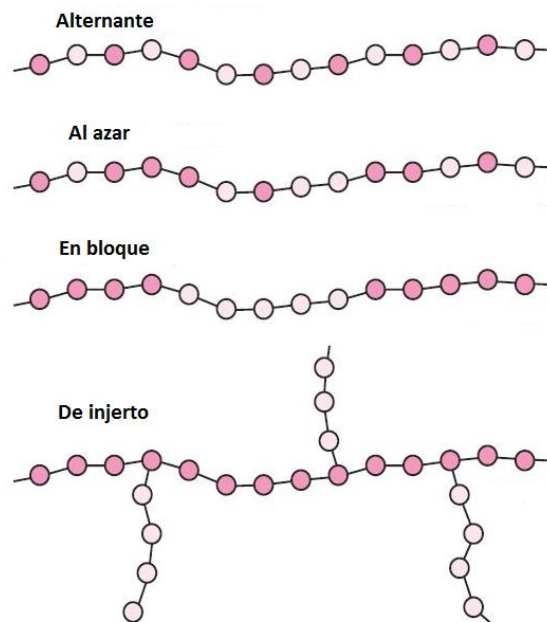


Figura 1. Tipos de copolímeros.

1.2.5. Según la naturaleza química de su síntesis

Las reacciones de polimerización pueden clasificarse como procesos de adición y de condensación, tal y como sugirió W.H. Carothers en 1929. Sin embargo, resulta más útil la clasificación de los polímeros basada en la cinética de reacción, en la cual las reacciones de polimerización se dividen en reacciones en cadena y reacciones por etapas. Pese a que las dos clasificaciones no son completamente sinónimas, la mayoría de procesos de adición son reacciones en cadena mientras que los procesos de condensación son reacciones por etapas.

- A. **Adición o Reacción en cadena:** este tipo de reacciones implican monómeros insaturados. La reacción característica empieza con la generación química de centros activos en seleccionadas moléculas monoméricas. Estos centros activos son generalmente radicales libres, pero pueden ser también cationes o aniones, y reaccionan fácilmente con otros monómeros sin extinguir el centro activo. De esta manera, cualquier centro activo se convierte en responsable de la reacción de un gran número de moléculas monoméricas que se agregan al polímero en crecimiento, provocando un aumento de su peso molecular. La reactividad de la especie implicada es alta, lo que provoca la formación rápida de polímeros de peso molecular elevado desde el principio de la reacción, y como consecuencia no suelen encontrarse especies intermedias entre el monómero y el polímero en este sistema de reacción.

Aunque la reacción en cadena no continua indefinidamente, una de las maneras para poder pararla, es que el centro activo encuentre otras moléculas para reaccionar como un solvente o una impureza y por lo tanto el centro activo se destruye y la molécula deja de crecer.

La polimerización en cadena consta de tres fases: iniciación, propagación y terminación.

1. **Iniciación:** es el primer paso del proceso de polimerización. Como ya se ha comentado anteriormente, los monómeros utilizados en este tipo de polimerización son insaturados y a veces requieren de un material iniciador. Estas sustancias se fragmentan en radicales libres. Los iniciadores de radicales libres más utilizados para estas reacciones son peróxidos orgánicos y el azobisisobutironitrilo (AIBN). La eficacia del iniciador es una medida del grado en el cual el número de radicales formados refleja el número de cadenas de polímero formadas. El rango en la eficiencia del iniciador oscila entre 0,3 y 0,8. Existen diversas formas de que se reduzca la eficiencia del iniciador como por ejemplo la recombinación de radicales libres.
2. **Propagación:** fase en la cual los radicales libres en el extremo de la molécula de polímero en crecimiento reaccionan con los monómeros para aumentar la longitud de la cadena de polímero.
3. **Terminación:** en esta fase la reacción llega a su fin porque los radicales son tan reactivos que encuentran diversas maneras de perder su actividad radical. Una de ellas es cuando dos

especies radicales reaccionan para formar un enlace simple y un producto de reacción. La otra es por la desproporción radical, en la cual un átomo de hidrógeno de un extremo de la cadena se abstrae a otro, produciendo un polímero con un grupo insaturado terminal y un polímero con un grupo terminal saturado.

- B. **Condensación o Reacción por etapas:** los polímeros de condensación se obtienen por la reacción aleatoria de dos moléculas. Con el objetivo de obtener productos de alto peso molecular, se usan monómeros de una funcionalidad igual a dos o superior. Los compuestos con funcionalidad igual a uno se utilizan para controlar la reacción, mientras que las especies trifuncionales se usan para dar polímeros ramificados o reticulados. Generalmente, este tipo de polimerización ocurre por la liberación de una molécula pequeña en forma de gas, agua o sal. Un ejemplo típico de este tipo de polimerización es la síntesis del nylon-6,6 mediante la policondensación del ácido adípico y la hexametilendiamina [4], [5].
- Las reacciones de apertura de anillo se pueden usar para fabricar polímeros mediante el mecanismo de polimerización por etapas.

En la [Tabla 1](#) se presentan las principales diferencias según el mecanismo de polimerización:

Tabla 1. Comparación entre polimerización en cadena y polimerización por etapas.

Adición o Reacción en cadena	Condensación o Reacción por etapas
El crecimiento ocurre por la adición de una unidad a la vez al final de la cadena de crecimiento activo.	Cualquiera de las dos especies moleculares puede reaccionar.
La concentración de monómero disminuye constantemente a lo largo de la reacción.	El monómero desaparece pronto en la reacción.
Las cadenas de polímero se forman desde que empieza la polimerización y durante todo el proceso.	La longitud de la cadena del polímero aumenta constantemente durante la polimerización.
El promedio de la longitud de la cadena para las especies reaccionadas permanece constante a lo largo del proceso.	El PM promedio de la reacción aumenta a lo largo de la reacción.
Aunque aumente el tiempo de reacción y consecuentemente el rendimiento del polímero, el PM sigue siendo aproximadamente el mismo.	Se requieren altas extensiones de reacción para obtener mayores longitudes de cadena.

La mezcla de reacción contiene monómero sin reaccionar, polímero y muy pocas cadenas de polímero en crecimiento.

El sistema de reacción contiene varias etapas del producto presente en una distribución calculable.

1.3. Polímeros biodegradables

Los polímeros biodegradables han atraído una atención mundial cada vez mayor desde hace dos décadas principalmente por dos razones: la primera es por la preocupación ambiental y la preservación del sistema ecológico y la segunda es la aceptación que nuestros recursos petrolíferos son finitos. Los polímeros biodegradables ya han sido aceptados en áreas de aplicación como envasado de alimentos, aplicaciones agrícolas y a medida que esta aceptación cobra impulso, el mercado de este tipo de polímeros está aumentando gracias a proveedores importantes como Novamont o BASF.

Hasta hace poco, la mayoría de los esfuerzos y descubrimientos de estos polímeros estaban orientados a su síntesis y no se prestaba demasiada atención a la prueba de biodegradabilidad. Es por esa razón, que se han hecho afirmaciones sin fundamento de biodegradabilidad y esto ha dañado la aceptación general. Diferentes organizaciones se han esforzado en aclarar y definir los términos de “degradación”, “biodegradación” y “biodegradabilidad”, pero en este TFG se definirán los términos según la definición aceptada por la comunidad internacional. Esta definición viene dada por la *American Society for Testing and Materials (ASTM)* y define los conceptos como se explican a continuación:

- Plástico biodegradable: un plástico biodegradable es un plástico degradable en el que la degradación resulta de la acción de microorganismos naturales como bacterias, hongos y algas.
- Biodegradación: degradación causada por actividad biológica, que normalmente ocurrirá simultáneamente con la iniciación por la degradación no biológica como la fotodegradación o la hidrólisis.
- Polímeros biodegradables: son macromoléculas derivadas principalmente de fuentes renovables, que pueden degradarse enzimática o hidrolíticamente en partes de bajo peso molecular. Estas partes pueden ser reabsorbidas por microorganismos, que idealmente las convierten en CO_2 y H_2O , lo cual fomenta una economía de flujo circular ambientalmente cerrada entre el cultivo de nutrientes, la producción, la utilización y el reciclaje de materiales [6]–[8].

1.3.1. Clasificación

En general, los polímeros biodegradables se pueden clasificar en dos grandes grupos, polímeros naturales y polímeros sintéticos.

- **Polímeros naturales:** provienen de recursos naturales renovables. Son polímeros sintetizados por microorganismos vivos que consisten en UCR. Los polímeros naturales se encuentran en microorganismos tales como bacterias, hongos, algas, mientras que los polímeros complejos como las proteínas, ácidos nucleicos, grasas e hidrocarburos están presente en los animales. La celulosa, aceites, almidones o los poliésteres se encuentran en las plantas u organismos inferiores.

Las macromoléculas naturales que contienen enlaces hidrolizables como la celulosa, las proteínas o el almidón son generalmente susceptibles a la biodegradación por enzimas hidrolíticas de microorganismos. Los poliésteres alifáticos como los polihidroxialcanoatos (PHA) también son polímeros fácilmente biodegradables que se encuentran en la naturaleza y que empiezan a tener un importante uso comercial.

- **Polímeros sintéticos:** se obtienen por la síntesis de métodos químicos. Los ésteres, anhídridos, diácidos y amidas son algunas de las composiciones químicas de estos polímeros. Los enlaces hidrolizables débiles que forman la columna vertebral de los biopolímeros sintéticos son la principal fuente de biodegradabilidad. Químicamente o enzimáticamente se descomponen en sus unidades de monómero, entre los cuales pocos son biológicamente aceptados por los cuerpos humanos, haciendo que su importancia sea significativa en aplicaciones biomédicas.

1.3.2. Factores para medir la biodegradación en los polímeros

Debido a los diversos mecanismos que están implicados en la biodegradación de un polímero, uno muy importante aparte de la química del polímero es el efecto del medio ambiente. La biodegradación está influenciada por:

1. Presencia de microorganismos.
2. Disponibilidad de oxígeno.
3. Temperatura.
4. Cantidad de agua disponible.
5. Condiciones del medio (pH, humedad).

1.3.3. Ácido poliláctico (PLA)

El ácido poliláctico (PLA) es un polímero biodegradable derivado del ácido láctico. Pertenece a la familia de poliésteres alifáticos y se obtiene de recursos renovables como el maíz, la remolacha azucarera, el trigo y otros productos ricos en almidón. Aunque también pueden usarse otros recursos renovables, el maíz tiene la ventaja de que proporciona una materia prima de alta calidad para la fermentación, lo cual da como resultado un ácido láctico de alta pureza. El PLA presenta muchas propiedades que son igual o mejoran a muchos de los plásticos producidos a base de petróleo, de modo que lo hace adecuado para una amplia variedad de aplicaciones.

La química del PLA proviene de la lactida, que es el dímero cíclico del ácido láctico, el cual existe como dos isómeros ópticos, el D y el L. La L-lactida es el estereoisómero natural, mientras que el DL-lactida proviene de la mezcla sintética de los dos estereoisómeros. El L-PLA es el homopolímero de la L-lactida y es un polímero semicristalino. La poli (DL-lactida) (DLPLA) es un polímero amorfo que exhibe una distribución aleatoria de ambas formas isómeras de ácido láctico y esto provoca que no pueda organizarse en una estructura cristalina organizada. Este material tiene una mayor elongación y una menor resistencia a la tracción además de tener un tiempo de degradación mucho más rápido. El PLA es aproximadamente un 37% cristalino y posee un punto de fusión elevado de aproximadamente 180 °C y una temperatura de transición vítrea entre los 60 y los 65 °C.

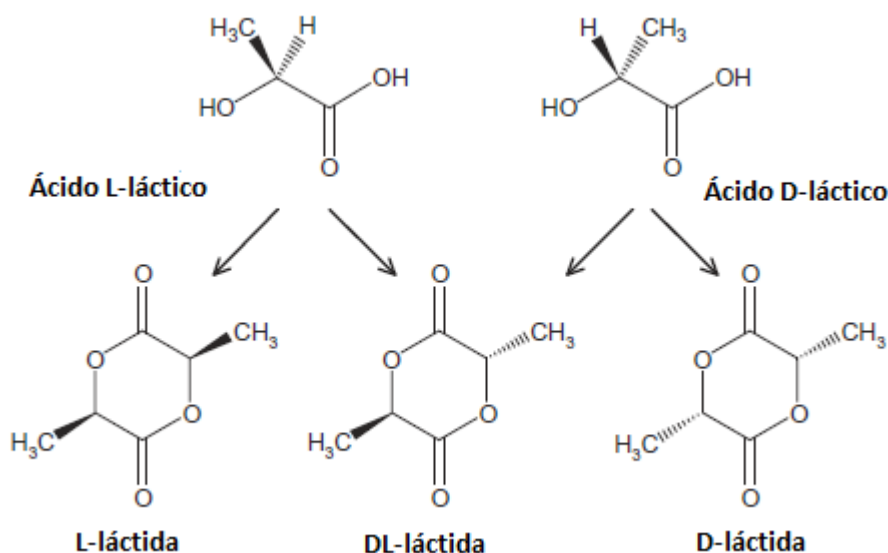


Figura 2. Estereoquímica de la lactida.

El PLA se produce a partir del monómero de ácido láctico (LA). Puede ser producido por dos rutas conocidas: el proceso de policondensación directa (DP) o la ruta de polimerización de apertura de anillo (ROP).

1. **Proceso de polimerización por policondensación directa:** es difícil obtener PLA de alto peso molecular con este proceso debido a la formación de agua durante la reacción. Inicialmente, se alimenta el ácido láctico crudo a un evaporador. Este ácido láctico suele consistir en una proporción del 15% de ácido láctico y un 85% de agua. El alto porcentaje de agua se debe a que el proceso de fermentación se lleva a cabo en medio acuoso. Se usa el evaporador para evaporar agua como producto superior, mientras que el resto es ácido láctico concentrado. Al salir del evaporador, el ácido láctico bruto se concentra a más del 85 % y seguidamente se transfiere a un reactor de prepolímero. Este reactor es en realidad otro evaporador, el cual elimina el agua del ácido láctico. Simultáneamente, tiene lugar la polimerización de condensación para formar ácido poliláctico. Cuando el ácido láctico se ha sometido a la polimerización por condensación, el grupo alcoxi reacciona con el hidrógeno escindido del grupo hidroxilo de la molécula de ácido láctico más cercana. Los productos restantes son un enlace de ácido láctico largo y moléculas de agua en exceso. Por esta razón, es importante la eliminación de agua [9].

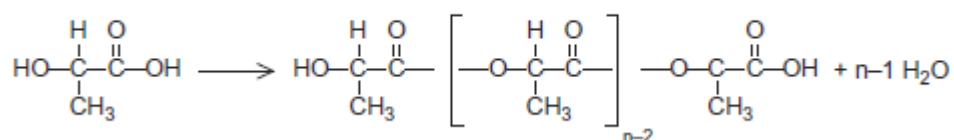


Figura 3. Reacción de polimerización por condensación del ácido láctico a ácido poliláctico.

2. **Polimerización por apertura de anillo (ROP):** a través de este proceso se forma una sustancia intermedia que es el dímero del ácido láctico, denominada Lactida. El proceso consiste en una primera condensación del ácido láctico en fase acuosa para producir un prepolímero de bajo peso molecular. Estos prepolimeros se convierten en PLA de alto peso molecular mediante la ROP de la lactida con determinados catalizadores. Este sistema es el más comúnmente utilizado para la síntesis del PLA de alto peso molecular.

En el siguiente esquema de la [Figura 4](#) se presentan las diferentes rutas para la producción de PLA a partir del ácido láctico.

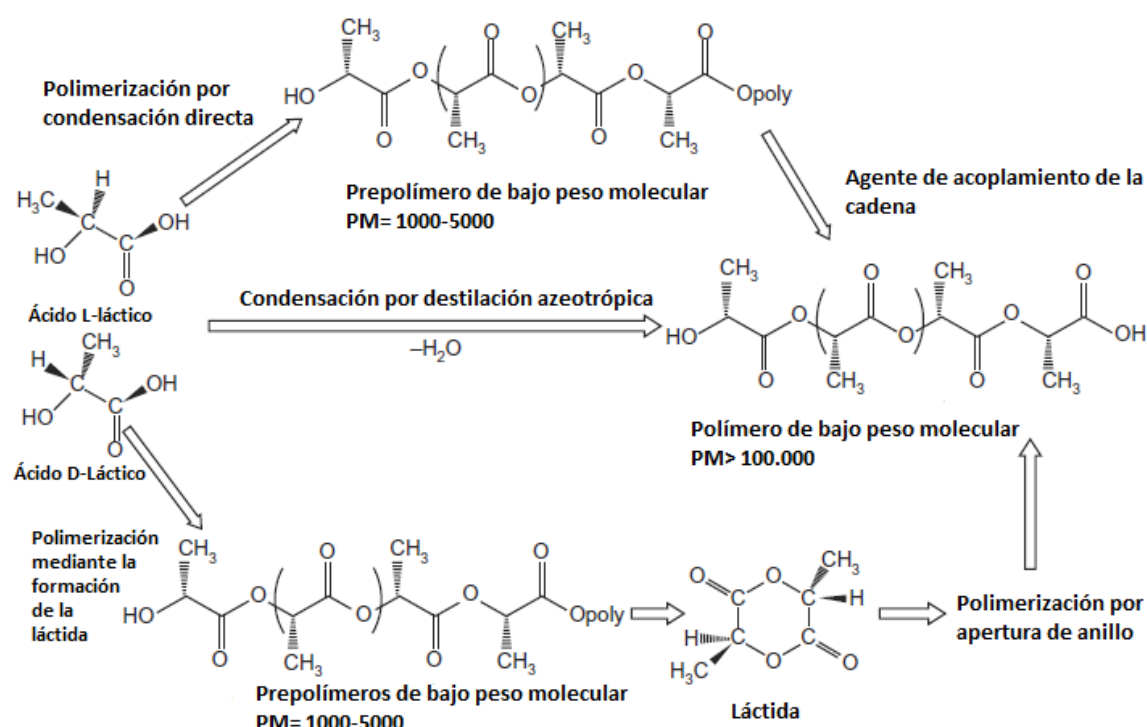


Figura 4. Esquema de las rutas de obtención del PLA a partir del ácido láctico [10].

El PLA tiene una amplia variedad de aplicaciones. Es un polímero muy utilizado en el campo farmacéutico y biomédico debido a su biodegradabilidad y biocompatibilidad con el cuerpo humano. Hoy en día, NatureWorks es el mayor productor de PLA para aplicaciones domésticas. NatureWorks emplea la polimerización de apertura de anillo para producir en masa productos como ropa, fibras, contenedores, botellas, etc. Otro de los campos con más repercusión en el comercio del PLA se encuentra en las aplicaciones biomédicas. El PLA se utiliza para la fabricación de andamios que proporcionan soporte estructural para la unión y para el crecimiento de tejidos. También se utiliza como portador de medicamentos para el tratamiento de distintas enfermedades de larga duración.

1.3.4. Polietilenglicol (PEG)

El Polietilenglicol (PEG), también conocido como óxido de polietileno (PEO), es un poliéter que puede ser lineal o ramificado y se encuentra en diferentes PM. Es un polímero soluble en sustancias como el agua, el tolueno y en la mayoría de los solventes orgánicos. En cambio, es insoluble en el hexano, el etilenglicol o el éter etílico.

Cuando el PEG posee un PM menor a $1.000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, éste es viscoso y además son líquidos incoloros. A medida que su peso molecular aumenta, la apariencia del polímero es sólida y blanca.

A continuación en la [Figura 5](#) se presenta la estructura química del PEG:

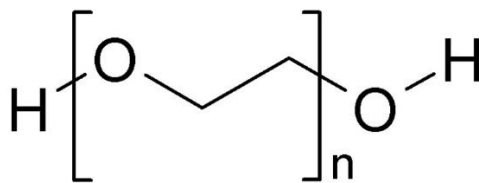


Figura 5. Estructura química del PEG.

El campo de mayor importancia del PEG es el de las aplicaciones biomédicas y biotecnológicas. Una muestra de estas, es el comportamiento que presenta el polietilenglicol en entornos acuosos. En una disolución acuosa, el PEG actúa como una molécula altamente móvil con un gran volumen de exclusión.

Otra propiedad de interés en el campo biomédico que posee este polímero, es que no es tóxico y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) la ha aprobado para el consumo interno. Algunas de las industrias que más han explotado esta propiedad son la farmacéutica y la cosmética.

Las principales aplicaciones químicas y biológicas donde se utiliza el PEG son los sistemas conjugados proteína-PEG para aplicaciones farmacéuticas y los sistemas conjugados enzima-PEG para procesos industriales. Además de las aplicaciones mencionadas, hay numerosas que incluyen el uso de PEG como en preparaciones farmacéuticas, lavado intestinal o en la protección de órganos [11], [12].

2. Enzimas

La biodegradación es un proceso catalizado por enzimas, y normalmente ocurre en dos etapas. En la primera de ellas, la enzima se une al polímero, y seguidamente en la segunda etapa se produce la escisión hidrolítica. Normalmente, cuanto más hidrófilo es el polímero, más susceptible es a la hidrólisis. Sin embargo, también hay otros factores que afectan la susceptibilidad a la hidrólisis, como la masa molar y la cristalinidad. Se degradan más rápidamente los polímeros de masa molar inferior que sus análogos de masa molar mayor. Esto también ocurre con las regiones amorfas de polímeros semicristalinos, ya que éstos se degradan más fácilmente que las regiones cristalinas.

En el caso de la biodegradación de las poliláctidas en el cuerpo humano o el medio ambiente, se sabe que es causada principalmente por la hidrólisis de enlaces éster en sus cadenas principales macromoleculares, y si los productos de degradación ácida no se eliminan a tiempo, puede dar lugar a que el proceso de biodegradación se auto acelere. Este mecanismo fue estudiado por *Kim et al* [13]. Debido a que los compuestos ácidos podían dar lugar a respuestas biológicas diversas, se tuvo que encontrar una alternativa como proceso de biodegradación. En el año 1981, en el artículo “*Enzymatic hydrolysis of polylactic acid*” [14], Williams investigó la degradación enzimática del PLA usando proteinasa K, bromelina y pronasa. De las tres enzimas, la proteinasa K proveniente del hongo *Tritirachium album* fue la más efectiva para la degradación del PLA. Posteriormente, la degradación enzimática de las polilactidas ha sido estudiada en diversas formas. Fukuzaki *et al.* informaron que la degradación de oligómeros de PLA se aceleró por varias enzimas del tipo esterasa, especialmente por la *Rhizopus delemar* Lipasa [15].

Para este TFG, se ha tenido en cuenta la posibilidad de trabajar en diferentes medios enzimáticos (Lipasa, proteinasa K y la quimotripsina). La primera enzima es específica para enlaces éster, la proteinasa K ataca tanto enlaces amida como enlaces éster, y la quimotripsina también ataca enlaces éster. Entre las tres alternativas propuestas, se ha escogido trabajar con la Lipasa porque con las otras opciones cabía la posibilidad de que el bacteriófago de la fibra del núcleo se viese afectado por el ataque enzimático.

3. Bacteriófagos

En 1915, Frederick Twort, un microbiólogo británico mientras intentaba propagar el virus vaccinia en placas de agar sin éxito, creyó que lo único que crecía en las placas eran bacterias contaminantes.

Sin embargo, pronto aparecieron manchas transparentes y vidriosas que viéndolas en detalle, eran zonas de bacterias muertas. Después de proponer distintas explicaciones para este fenómeno, Twort dejó pasar el asunto. Dos años más tarde, el microbiólogo franco-canadiense Félix d'Herelle publicó unas observaciones similares a las de Twort, pero en esta ocasión afirmando que había descubierto un nuevo virus que infectaba a las bacterias, al que nombró como bacteriófago [16]–[18]. El nombre está compuesto por “bacteria” y “phagein” que proviene del griego y significa comer.

La terapia fágica se utiliza terapéuticamente para las infecciones bacterianas que no responden al tratamiento con antibióticos convencionales. Los países del Este han sido los que más la han utilizado, pero con el descubrimiento de los antibióticos el mundo occidental perdió el interés en su uso durante mucho tiempo. Algunas de las principales aplicaciones potenciales de los bacteriófagos se encuentran en la medicina humana, la agricultura o el procesamiento de alimentos.

Los bacteriófagos, virus que tienen la capacidad de matar bacterias sin afectar las líneas celulares de otros organismos, varían en su forma y su material genético, al igual que otros tipos de virus. Los genomas de los fagos pueden consistir de ADN con cientos de genes (bacteriófago T4) o de ARN (bacteriófago MS2). Los bacteriófagos están constituidos por una cubierta proteica conocida como cápside, la cual envuelve el material genético. Esta cápside puede ser de forma icosaédrica, filamentosa o de cola de cabeza, oscilando el tamaño entre los 20 y los 200 nm según la estructura del fago. Como puede observarse en la [Figura 6](#), el bacteriófago utiliza sus espículas para adherir a la bacteria su material genético.

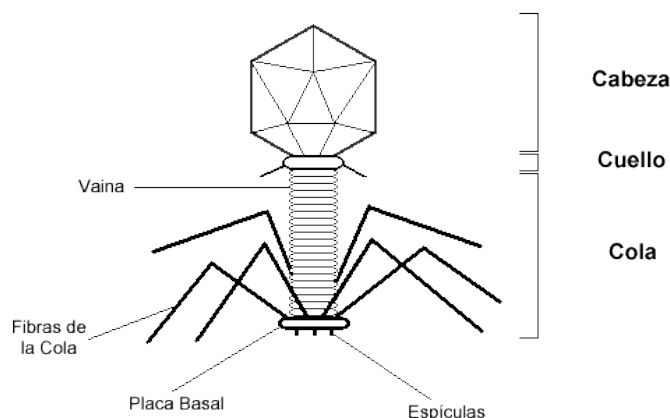


Figura 6. Estructura y partes de un bacteriófago.

Como parásito intracelular obligatorio de una célula bacteriana, los fagos muestran diferentes ciclos de vida dentro del huésped bacteriano: lítico y lisogénico. Sea cual sea el tipo de ciclo de vida del fago, el primer paso es la unión a los receptores de la pared celular bacteriana antes de que los fagos entren en la bacteria.

En el caso del ciclo lítico, el primer paso es la adhesión del bacteriófago a la superficie de la célula bacteriana mediante sus espículas. Seguidamente el fago inyecta su genoma de ADN dentro del citoplasma de la bacteria huésped y posteriormente esta se replica, generando nuevas cápsides. En la cuarta y última etapa, el bacteriófago expresa los genes para las proteínas que producen agujeros y dejan entrar agua, lo que provoca que la célula estalle o lise, liberando centenares de nuevos fagos que pueden infectar nuevas células anfitrionas próximas. Un ejemplo de bacteriófago lítico es el T4, específico para la bacteria *Escherichia coli*.

Por el contrario, en el caso del ciclo lisogénico, este permite que el fago se reproduzca sin matar a su anfitrión. Mientras las dos primeras etapas son idénticas al ciclo lítico (fijación e inyección de ADN), cuando el contenido genético del bacteriófago se encuentra en los cromosomas de la bacteria, éste se replica pasando a formar parte del cromosoma bacteriano. Este ADN de profago se transmite verticalmente junto con todo el genoma bacteriano permitiendo que la bacteria pueda replicarse durante generaciones. Si se dan las condiciones adecuadas, el profago puede volverse activo y salirse del cromosoma bacteriano, lo que induce a volver al ciclo lítico.

Los bacteriófagos utilizados en este TFG son un bacteriófago comercial para uso médico (*PhagestaphTM*) específico para la bacteria gram positiva *Staphylococcus aureus* y un cóctel de fagos específico para la bacteria gram negativa *Pseudomonas aeruginosa*.

4. Electrospinning

4.1. Historia

El primer reporte que tenemos de la técnica del *electrospinning* es muy antiguo, de finales del siglo XVI cuando William Gilbert describió el comportamiento del fenómeno magnético y electrostático. Gilbert distinguió la diferencia de fuerza que emanaba la fuerza magnética de un imán con la fuerza electrostática que generaba el ámbar frotado. Vio que cuando acercaba una pieza de ámbar cargada a una gota de agua, ésta formaba un cono y pequeñas gotas eran expulsadas de la punta de éste [19].

En la época contemporánea es común pensar que la técnica del *electrospinning* empieza con las contribuciones de Anton Formhals en los años 30. Sin embargo, el proceso empezó con John Francis Cooley 30 años antes. Las tres primeras patentes de Cooley entre 1900 y 1903 contienen numerosos conceptos fundamentales de la técnica. La patente presentada en 1902 en Estados Unidos “*Apparatus for electrically dispersing fibres*”, describía un procedimiento para generar fibras mediante energía de alto voltaje. Desde estas tempranas versiones de la técnica ya se observó que para poder recoger fibras en lugar de gotas se necesitaban tres factores que afectaban directamente al resultado: a) el fluido debía ser suficientemente viscoso, b) el solvente debía ser lo suficientemente volátil para evaporarse para poder permitir la regeneración del polímero sólido, c) la intensidad del campo eléctrico utilizado debía estar dentro de un cierto rango.

Años después, Anton Formhals, al cual se le atribuye el título de inventor del *electrospinning* debido a sus 22 patentes que contribuyeron al desarrollo de la técnica, empezó con el desarrollo de esta técnica entre los años 1929 y 1944. Sus primeros experimentos le llevaron a la creación de una máquina basada en un emisor de fibra giratoria de dientes de sierra. Pocos años más tarde, en 1937, Formhals centró su atención en el diseño de las boquillas. El diseño de su boquilla tenía una forma cónica para facilitar la limpieza.

Después de él, se han llevado a cabo numerosas investigaciones del proceso por investigadores como Norton (1936), Baumgarten (1971), Reneker (1995), Yang et al. (2005) debido al amplio campo de aplicaciones que permite esta técnica [3], [19].

4.2. Principios de la técnica

La técnica del *electrospinning*, físicamente, es la resultante de una “guerra” entre las fuerzas electrostáticas producidas por una fuente de alta tensión y la tensión superficial que adopta el *jet*. Cuando se le aplica un campo eléctrico a una gota líquida de una disolución de polímero, se acumula una carga electrostática en la punta de ésta gota. Como consecuencia, la gota cargada ejerce una repulsión electrostática que actúa contra la tensión superficial, y hace que cambie la forma esférica a una forma cónica (Cono de Taylor). En 1964, Taylor desarrolló el modelo matemático de la formación del cono, sin embargo no fue hasta la década de los años 90 que esta técnica se popularizó. A medida que el cono formado se acelera, el diámetro va disminuyendo y la tensión superficial descompuesta en una componente tangencial y normal, se equiparan hasta llegar a ser iguales. Es en este momento cuando el cono se solidifica y caen las fibras sobre el colector.

4.2.1. Setup

Para la preparación de los *scaffolds* que solo contienen PEG y PLA, se ha utilizado un sistema de montaje vertical. A diferencia del sistema en posición horizontal, este presenta el inconveniente de que pueden haber gotas de solución que van desde la punta de la aguja hacia el plato colector. Este hecho puede dificultar la recolección de las fibras ya que interrumpen el proceso y la superficie de estas se ve modificada. Pese a lo mencionado anteriormente, en este TFG se ha utilizado este sistema ya que se ha podido evitar el inconveniente comentado.

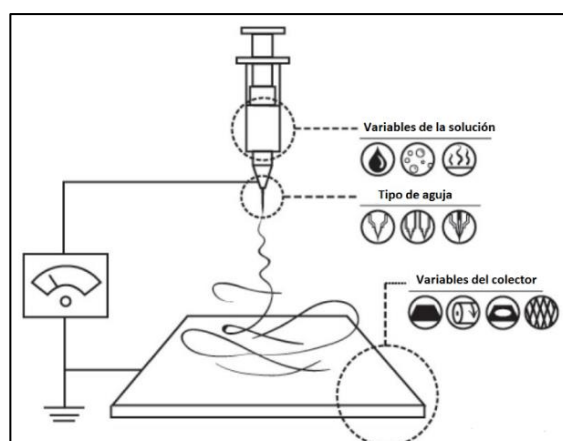


Figura 7. Setup del montaje en vertical.

4.3. Parámetros de la técnica

Mientras que el *setup* para la preparación de la técnica es relativamente simple en un laboratorio, no hay modelo que prediga la morfología de las fibras obtenidas por *electrospinning*, ya sea convencional o coaxial, debido a la complejidad del proceso. Estos factores que afectan al proceso se pueden clasificar en tres grupos:

1. Condiciones de la solución polimérica.
2. Condiciones del proceso.
3. Condiciones ambientales.

Los parámetros menos estudiados hasta la fecha son los relacionados con las condiciones ambientales. En este TFG, los parámetros relacionados con las condiciones ambientales no se han tenido en cuenta debido a la dificultad para controlarlos.

Para poder recoger fibras que satisfagan el experimento que se lleve a cabo, ha de haber un balance entre estas condiciones.

En la siguiente tabla se hace un resumen de estos parámetros y sus efectos:

Tabla 2. Efectos de los parámetros del electrospinning en la morfología de las fibras.

Condiciones	Parámetro	Efecto en la morfología de la fibra
Solución polimérica	Concentración de la solución	Este parámetro está muy ligado a la conductividad, ya que a medida que la concentración aumenta o disminuye, la viscosidad también cambia. Generalmente se observa que a bajas concentraciones de polímero y baja viscosidad aparecen <i>beads</i> . A medida que se va aumentando la concentración, el diámetro de la fibra aumenta pero si la concentración es muy alta las

	<p>fibras no se formaran debido a la alta viscosidad, ya que la tensión superficial es demasiado grande y evita la interrupción del cono de Taylor.</p>
Peso molecular	<p>Un polímero de alto peso molecular generará una mayor viscosidad que si la solución tuviese el mismo polímero pero de menor peso molecular.</p> <p>Un mayor peso molecular generará mayor cantidad de fibras y menos probabilidad de que se formen gotas [3], [20].</p>
Tensión superficial	<p>La tensión superficial intenta reducir el área superficial por unidad de masa, haciendo que el chorro adopte forma esférica y no cónica. Se ha comprobado que adicionando disolventes a las soluciones con baja tensión superficial (usando etanol) se producían fibras lisas. En cambio, con soluciones de alta tensión superficial (usando dimetilformamida) aparecían <i>beads</i> en las fibras [3], [20].</p>
Conductividad	<p>La conductividad del disolvente está intrínsecamente ligada a la</p>

	<p>transferencia de carga del polímero. A alta conductividad, se formarían fibras más delgadas.</p> <p>Se ha estudiado que la adición de sales a la solución incrementaba la conductividad y producía fibras más delgadas desde un chorro inicial de un diámetro más pequeño. Sin embargo, existe un límite para la reducción en el diámetro de la fibra. A medida que la solución se estira, la fuerza visco elástica se agranda actuando contra las fuerzas de las cargas.</p>
Viscosidad	<p>Generalmente, la viscosidad de la solución está relacionada con el grado de entrelazamiento de las cadenas de polímero dentro de la solución. Cuando la solución tiene baja viscosidad, se puede producir <i>electrospray</i> y, por lo tanto, se forman <i>beads</i> en lugar de fibras.</p>
Volatilidad de la solución	<p>El solvente se evapora mientras el chorro va hacia el colector. La mayoría de disolventes se evaporan cuando el chorro ha llegado al colector pero hay algunos en los cuales el ratio de evaporación del solvente es muy bajo y por lo tanto éste no se ha evaporado lo suficiente</p>

	<p>cuando el <i>jet</i> llega al colector y en lugar de fibras se forma una fina capa de polímero.</p>
<p>Proceso</p>	<p>Voltaje</p> <p>Si se aplica un alto voltaje, este generara un mayor campo eléctrico, por lo que el jet acelerará más rápido y se extraerá más volumen de la aguja. Esto puede dar lugar a un cono de Taylor más pequeño y menos estable [21]. En la mayoría de los casos, el alto voltaje produce fibras de diámetro menor con un mayor estiramiento de estas. También se favorece en estas condiciones una evaporación más rápida del solvente para producir fibras más secas.</p>
	<p>Velocidad de flujo</p> <p>La velocidad de flujo determinará la cantidad de solución disponible para el <i>electrospinning</i>. Cuando se aumenta la velocidad del flujo del proceso, hay un aumento en el diámetro de las fibras. Sin embargo, hay un límite de la velocidad de flujo, ya que si éste se acelera demasiado puede no haber tiempo para que el solvente se pueda evaporar.</p>

Ambientales	Distancia aguja-colector	Si la distancia es pequeña, el disolvente que se utilice ha de ser altamente volátil para que se evapore antes que el chorro llegue al colector y así poder recoger fibras sólidas.
	Diámetro del orificio	Un diámetro más pequeño de la aguja reduce la cantidad de <i>beads</i> en las fibras electrohiladas. Se ha encontrado también que una disminución del diámetro interno del orificio causa una reducción del diámetro de las fibras recogidas.
	Temperatura	Se ha de intentar mantener constante este parámetro ya que el aumento de la temperatura reduce la viscosidad y esto comporta que se obtenga fibras de menor tamaño [22]. Según <i>Demir et al</i> en sus estudios de <i>electrospinning</i> del poliuretano, si se variaba su experimento trabajando de temperatura ambiente a 70 °C, observaron que las fibras a esta temperatura salían de diámetro uniforme [23].
	Humedad	Un aumento de la humedad durante el <i>electrospinning</i> causará la formación de poros

	<p>circulares en las superficies de las fibras [24].</p> <p>La humedad del ambiente también determinará la velocidad de evaporación del solvente en la solución. Si la humedad es baja, un solvente volátil se puede secar muy rápidamente. La evaporación del disolvente puede ser más rápida que la eliminación del disolvente de la punta de la aguja y esto provocará que en pocos minutos la aguja se obture [25].</p>
<p>Composición Atmosférica</p>	<p>La composición del aire puede afectar a la técnica del <i>electrospinning</i>. Si la atmósfera está compuesta de un gas con alta resistencia a la ruptura, la intensidad del campo eléctrico puede ser elevada. Baumgarten descubrió que si usaba hexafluoruro de azufre (SF₆), un gas con una alta resistencia dieléctrica y densidad, las fibras obtenidas tenían el doble de diámetro que aquellas que eran electrohiladas en aire con las otras condiciones iguales [25].</p>

4.4. Aplicaciones Electrospinning

A continuación se detallaran algunas de las principales aplicaciones que existen de las fibras de *electrospinning* en los diferentes campos científicos. A pesar de que aquí se nombren algunos, el estudio de las nanofibras obtenidas con el uso de esta técnica no deja de aumentar y continuamente aparecen nuevas aplicaciones.

4.4.1. Aplicaciones Biomédicas

7.4.1.1 Ingeniería de tejidos de *Scaffolds*

Este es un campo emergente de investigación que implica el uso de células vivas, manipuladas a través de su entorno extracelular o genéticamente, para desarrollar sustitutos biológicos para la implantación en el cuerpo o para promover la remodelación de tejidos. El propósito de la ingeniería de tejidos es el de reparar, reemplazar, mantener o mejorar la función de un tejido u órgano en particular.

Los *scaffolds* de nanofibras electrohiladas poseen características únicas, como por ejemplo su relación de área de superficie a volumen, la cual es extremadamente alta, lo que permite una alta cantidad de actividades dentro de los andamios. Además, los *scaffolds* fibrosos tridimensionales hechos de biomateriales tanto sintéticos como derivados naturalmente tienen alta porosidad e interconectividad entre poros, lo que proporciona un entorno favorable para la infiltración celular.

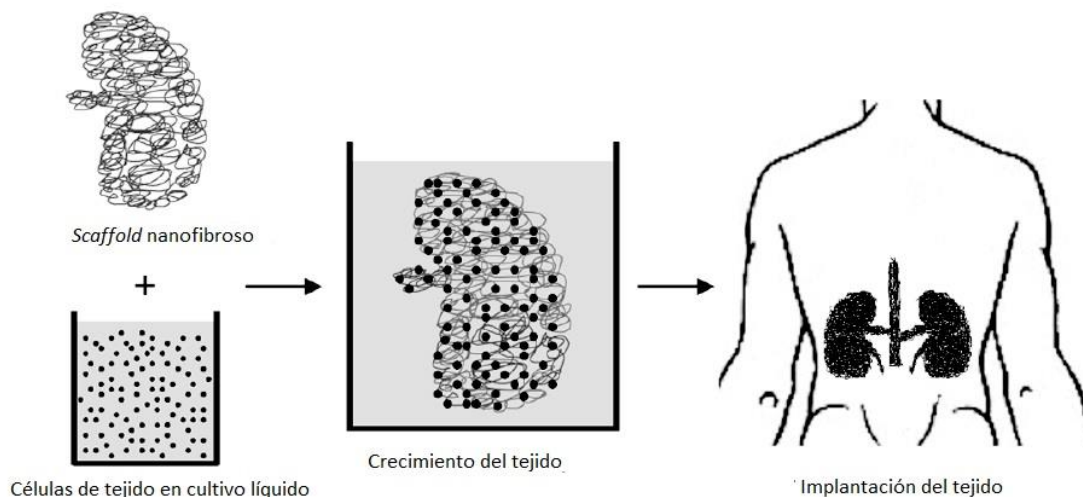


Figura 8. Esquema del proceso de la ingeniería de tejidos [26].

Para que los *scaffolds* sean funcionales, hay algunos requisitos que han de cumplir:

1. El andamio debe poseer un alto grado de porosidad, con una distribución de tamaño de poro adecuada.
2. Se necesita una gran superficie de área.
3. A veces se requiere biodegradabilidad donde la tasa de degradación ha de coincidir con la tasa de formación del neo-tejido.
4. El andamio debe poseer la integridad estructural para evitar que los poros del andamio colapsen durante la formación del neo-tejido con las propiedades mecánicas apropiadas

A continuación se enumeran las principales zonas del cuerpo en las que se hacen uso los *scaffolds* nanofibrosos electrohilados para reparar tejidos humanos:

- Huesos
- Cartílago
- Tendones/ligamentos
- Piel
- Músculo
- Tejidos nerviosos
- Vasos sanguíneos

7.4.1.2 Protección de heridas

Otra de las aplicaciones biomédicas más importante es la de la protección de las heridas. El vendaje de heridas es una terapia utilizada para la regeneración dérmica y la de tejidos epidérmicos cuando la piel está lesionada o presenta quemaduras. La protección de heridas con membranas nanofibrosas electrohiladas permite cumplir requisitos tales como una mayor permeabilidad a los gases y protección de la herida contra la infección y deshidratación. El objetivo de esta aplicación es la producción de una estructura ideal, que proporcione una mayor porosidad y sea una buena barrera física a una herida. Para que esto se lleve a cabo, los apósitos para las heridas deben seleccionarse cuidadosamente y la estructura debe controlarse para confirmar que posee buenas propiedades de barrera y de permeabilidad al oxígeno.

Khil et al en su estudio "*Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing*" comprobaron que la velocidad de epitelización aumentó y la dermis se organizó bien en la membrana nanofibrosa electrohilada y proporcionó un buen soporte para la curación de heridas [27].

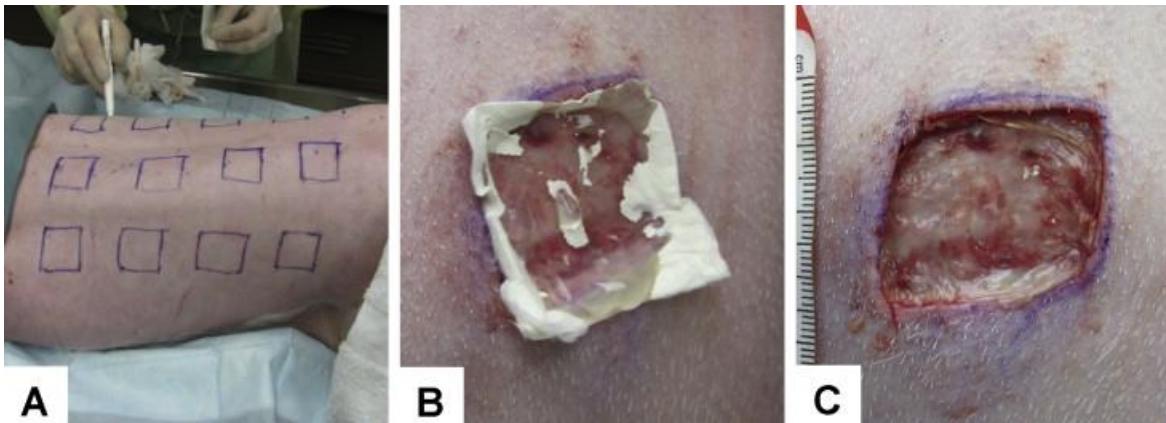


Figura 9. Colocación de heridas en la parte posterior de un modelo de cerdo y tratamiento de una herida con un andamio de proteína de soja [28].

7.4.1.3 Administración de medicamentos y Control de liberación

Gracias a la capacidad de la fibra electrohilada a actuar como portadora de moléculas no poliméricas, otra de las más importantes aplicaciones biomédicas ha sido la de utilizar la fibra como un portador de medicamentos. Generalmente, la absorción de drogas en el cuerpo humano es más rápida cuanto menor sea el tamaño de la droga y su material de recubrimiento. Esto tiene como consecuencia que durante años se haya utilizado como sistema de administración de fármacos materiales poliméricos en forma de nano o micro partículas. Pese a que estos materiales poliméricos mejoraron el efecto terapéutico, uno de los principales objetivos de esta aplicación es el cómo controlar con precisión la velocidad de liberación del fármaco. Recientemente, debido a los antecedentes comentados, los científicos se han centrado en el uso de membranas de nanofibras de polímero que encapsulan medicamentos en lugar de usar materiales poliméricos convencionales.

Las nanofibras para sistemas de liberación de fármacos provienen mayoritariamente de polímeros biodegradables y polímeros hidrofílicos. Hay muchos factores que influyen en el comportamiento de liberación, como el polímero utilizado, la solubilidad, los aditivos, etc.

Recientemente se está comparando la liberación de nanofibras con fármacos usando el *electrospinning* convencional y el *electrospinning* coaxial [26]. En uno de estos estudios se encontró que las fibras recogidas por el método convencional aún mostraba una explosión temprana, mientras que en el *electrospinning* coaxial se proporcionó un factor de crecimiento estable [29].

4.4.2. Aplicaciones electrónicas y energéticas

El almacenamiento de energía es esencial en el contexto de la demanda mundial de energía, ya que ésta ha acelerado el consumo de combustibles fósiles no renovables. Recientemente se está apostando por el crecimiento de fuentes renovables en los años futuros para poder cubrir la demanda tan alta de energía que los combustibles fósiles proporcionan cuando estos se acaben. Pese a que estas fuentes renovables permiten la producción de energía sostenible, la implementación de éstas a veces se dificulta debido a su comportamiento fluctuante. Una de las soluciones para resolver estos problemas han sido los materiales nanofibrosos ya que éstos pueden tener una gran conversión de energía y una alta eficiencia.

En la [Tabla 3](#) se presentan diversos sistemas de energía limpia sin producción de dióxido de carbono.

Tabla 3. Ventajas e inconvenientes de diversos sistemas de energía limpia.

Tipo de energía limpia	Ventajas	Inconvenientes
Generador de viento	Coste bajo, gran eficiencia de generación de energía	Influenciada a condiciones climáticas
Generación de energía solar	Eficiencia energética no dependiente del tamaño	Baja densidad de energía, influenciada a condiciones climáticas
Batería de hidrógeno	Eficacia energética, bajo coste, bajo ruido	Gas explosivo, problema de almacenamiento de gas, alto coste
Batería de polímero	Peso ligero, geometría pequeña	Largo tiempo de carga, baja densidad de energía

Una de las aplicaciones donde se usan fibras de polímero electrohiladas debido a la estructura de los poros y al tamaño de las fibras es en las baterías de polímero.

Las baterías de polímero nanofibroso tienen tres importantes propiedades. La primera es la conductividad de los iones, la segunda su resistencia interfacial y por último su estabilidad electroquímica.

Otro de los trabajos científicos donde se ha estado investigando el uso de fibras electrohiladas como elemento es en las baterías de polímero de litio [26]. Se encontró que las fibras electrohiladas de polifluoruro de vinilideno (PVDF) eran adecuadas como una membrana altamente porosa que a 60 °C mostraba un buen rendimiento a alta temperatura. El buen rendimiento a altas temperaturas, permite que las baterías de polímero de litio operen a una velocidad de descarga mayor y tengan un ciclo de mejor rendimiento [30].

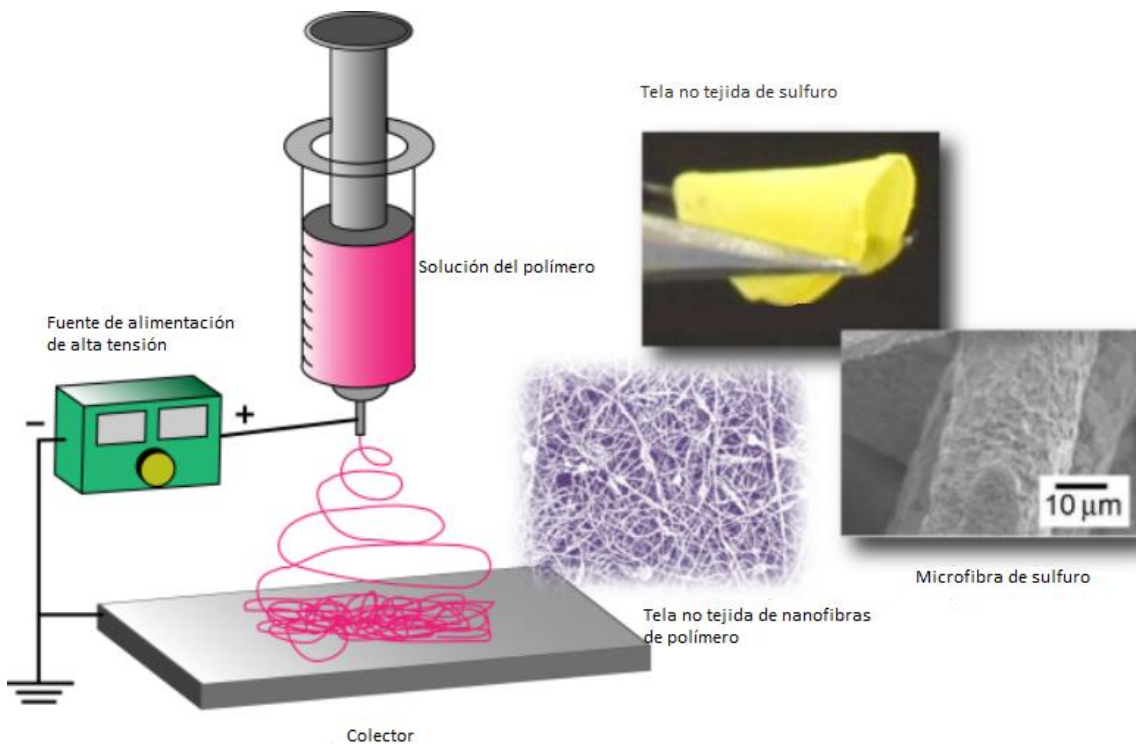


Figura 10. Esquema de la obtención de la microfibr de sulfuro para su posterior uso en la batería de litio [31].

Otra de las aplicaciones dónde se hace uso de las fibras electrohiladas debido a su área específica de alta superficie se encuentra en los supercondensadores, también conocidos como condensadores electroquímicos de doble capa. Estos aparatos tienen una capacitancia superior a los que se han usado tradicionalmente en la electrónica moderna, y pueden almacenar cantidades relativamente grandes de energía durante períodos cortos de tiempo. Como se pueden producir con una alta densidad de energía y una velocidad de carga y descarga muy alta, se han utilizado como fuente de energía para vehículos eléctricos, o como energía de respaldo para portátiles o teléfonos móviles.

4.4.3. Aplicaciones ambientales

Debido al impacto medioambiental que está causando el ser humano en la Tierra, continuamente se está en la búsqueda de soluciones para reducir este impacto lo máximo posible. Una de las soluciones en las que se ven involucradas las nanofibras, es que debido a su alta área de superficie específica, se utilicen para recolectar contaminantes mediante adsorción química o bloqueo físico.

7.4.3.1 Filtración

La tecnología de filtración de aire es de gran interés debido a su amplio rango de aplicaciones, así como también al bajo consumo de energía y su alto rendimiento. Las membranas fibrosas se utilizan en diferentes aplicaciones de filtración, tales como: equipos de limpieza de gases industriales, purificadores de aire para automóviles, ambientes interiores, en prendas y bolsas aislantes para descontaminar polvos de aerosoles, etc. Las membranas pueden estar hechas de diferentes materiales dependiendo de la aplicación: vidrio, celulosa, plásticos o materiales compuestos.

Generalmente, los filtros están hechos de fibras empacadas colocadas perpendicularmente a la dirección del aire. Dependiendo del tamaño de las partículas, se usan diferentes mecanismos para eliminarlas. Si las partículas son grandes, estas se bloquean en la superficie del filtro debido al efecto del tamiz. Las partículas más pequeñas, también pueden ser recogidas por las fibras gracias a mecanismos como la interceptación o la atracción eléctrica estática.

Los dos parámetros claves que se utilizan para evaluar el rendimiento del filtro son la eficiencia y la caída de presión. La eficiencia suele estar relacionada por la estructura del filtro físico (espesor, tamaño del poro, finura de la fibra), la superficie química y las propiedades electrónicas de la superficie de la fibra [26], [32].

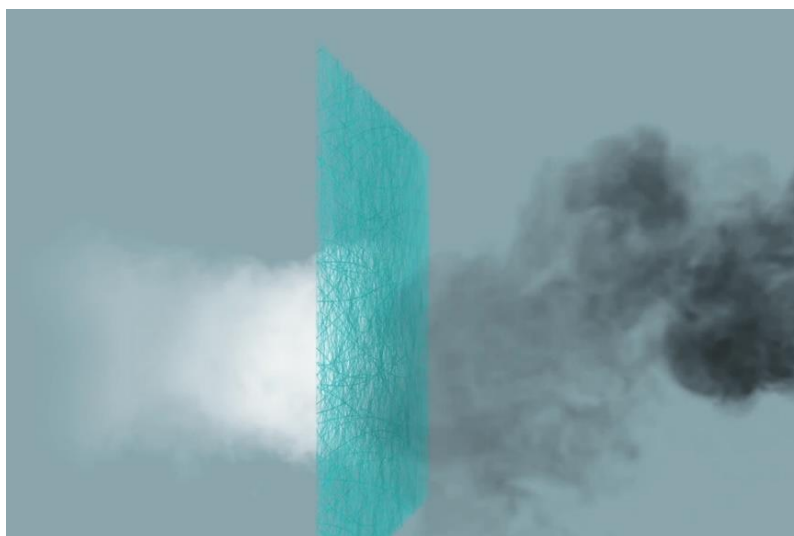


Figura 11. Filtración.

4.4.4. Aplicaciones de sensores

Los sensores son dispositivos que convierten una señal química, biológica o física en una señal eléctrica fácilmente detectable y medible. La detección puede ser cualitativa (qué hay) o cuantitativa (cuánto hay) y para que funcione se necesitan dos componentes principales, el procesamiento de muestras y la detección, que han de trabajar conjuntamente. Un buen sensor debe tener una dimensión pequeña, un bajo coste de fabricación y múltiples funciones, además de alta sensibilidad, selectividad y confiabilidad [33].

Las nanofibras electrohiladas han sido objeto de investigación en este campo debido a su gran área de superficie, ya que ésta es uno de los parámetros más deseados para la sensibilidad de película del sensor de conductimetría y por su estructura altamente porosa. Se han utilizado diferentes enfoques para utilizar las nanofibras que poseen una capacidad detectora, como por ejemplo el uso de un material de detección polimérico para las nanofibras electrohiladas, la incorporación de moléculas de detección en nanofibras o aplicar un material de detección en la superficie de la fibra por medio del recubrimiento.

4.5. Electrospinning coaxial

La primera referencia que hay del *electrospinning* coaxial es de hace 15 años [34]. Este método es una bifurcación del *electrospinning* convencional, el cual introduce una nueva clase de micro/nanofibras con una estructura formada por un núcleo (*core*) y una cubierta (*shell*).

El proceso de esta ampliación del *electrospinning* uniaxial se realiza de igual manera que si se tratase del electrohilado convencional, iniciándose cuando caen gotas estables de la disolución polimérica. Seguidamente, después de aplicarle el voltaje adecuado para que se forme únicamente un cono de Taylor que garantice que está compuesto por las dos disoluciones, se acumulan las fibras en el colector.

El *electrospinning* coaxial ha obtenido mucho interés por las múltiples aplicaciones posibles para diferentes propósitos. Una de las numerosas aplicaciones es la realizada por *Chen et al* en la fabricación de un andamio compuesto por nanofibras compuestas de poliuretano y una funda de colágeno, con la capacidad de combinar diferentes materiales de diversas propiedades mecánicas y químicas [35]. La posibilidad de encapsular fluidos empleando este método resulta atractiva en el campo de las aplicaciones biomédicas, ya sea para encerrar fármacos, factores de crecimiento, proteínas u otras sustancias de interés biológico [36].

4.5.1. Setup

Existen diversos *setups* para la realización del *electrospinning* coaxial, como el uso de una jeringa de plástico con dos compartimentos que contiene las diferentes soluciones de los polímeros, u otra más reciente, utilizando únicamente una sola jeringa con una bomba de desplazamiento [37]. En la [Figura 12](#) se muestra el prototipo ideado por el doctor Luis Javier del Valle con el que se ha trabajado durante la realización de este TFG. Como se puede observar, el prototipo consta de una boquilla coaxial compuesta por dos agujas concéntricas, la cual está alimentada por la disolución del PEG para la aguja 21G (aguja del núcleo de la fibra coaxial) y las agujas 14G/18G para la disolución de la cubierta (PLA).



Figura 12. Prototipo utilizado para el electrospinning coaxial.

5. Materiales y métodos experimentales

A continuación se presentan los reactivos y materiales utilizados para los diferentes ensayos que se han realizado en el laboratorio, así como los equipos y las técnicas experimentales que se han llevado a cabo para la caracterización de las matrices poliméricas.

5.1. Reactivos

Los reactivos utilizados en el presente proyecto para los distintos experimentos fueron:

- Polietilenglicol (PEG) 35000 g·mol⁻¹, de *Sigma-Aldrich*.
- Ácido poliláctico (PLA) 2002D, de *Sigma-Aldrich*.
- Lipasa de páncreas porcino, de *Sigma-Aldrich*.
- *Phagestaph*TM, de *JSC Biochimpharm* y un cóctel de bacteriófagos.
- *Staphylococcus aureus*.
- *Pseudomonas Aeruginosa*.

5.2. Disolventes

Los disolventes utilizados para la realización de los diferentes ensayos fueron:

- Cloroformo 99,8% estabilizado con amileno, de *Fisher Scientific*.
- Hexafluoroisopropanol (HFIP), de *Sigma-Aldrich*.
- Acetona, de *PanReac*.
- Etanol absoluto, de *Scharlau*.
- Tampón fosfato Sörensen.
- Agua destilada.
- Agua desionizada Millipore.
- Cloruro de sodio, de *Sigma-Aldrich*.
- PBS, de *Sigma-Aldrich*.

5.3. Material de laboratorio

Para realizar los diferentes ensayos de laboratorio, se han utilizado los siguientes materiales:

- Jeringas de 5 y 10 mL, *BD Discardit II* o *Braun Injekt*.

- Agujas 21G, 18G y 14G de la marca *Terumo*.
- Pipetas *Pasteur* y peras de aspiración.
- Espátula.
- Pinzas de precisión.
- *Parafilm* y tijeras.
- Papel de aluminio.
- Viales de 10, 20 y 50 mL.
- Placas de Petri.
- Probetas de 10 y 20 mL.
- Tubos *eppendorf* de 1,5 mL.
- Balanza analítica.
- Micropipetas.

En cuanto a los equipos de protección personal, se ha empleado una bata de laboratorio, guantes de nitrilo y gafas homologadas.

5.4. Equipos y técnicas experimentales

5.4.1. Electrospinning uniaxial/coaxial

El equipo del *electrospinning* convencional que se ha utilizado para la obtención de fibras uniaxiales está compuesto por 5 partes diferenciadas, tal y como se puede observar en la [Figura 13](#).

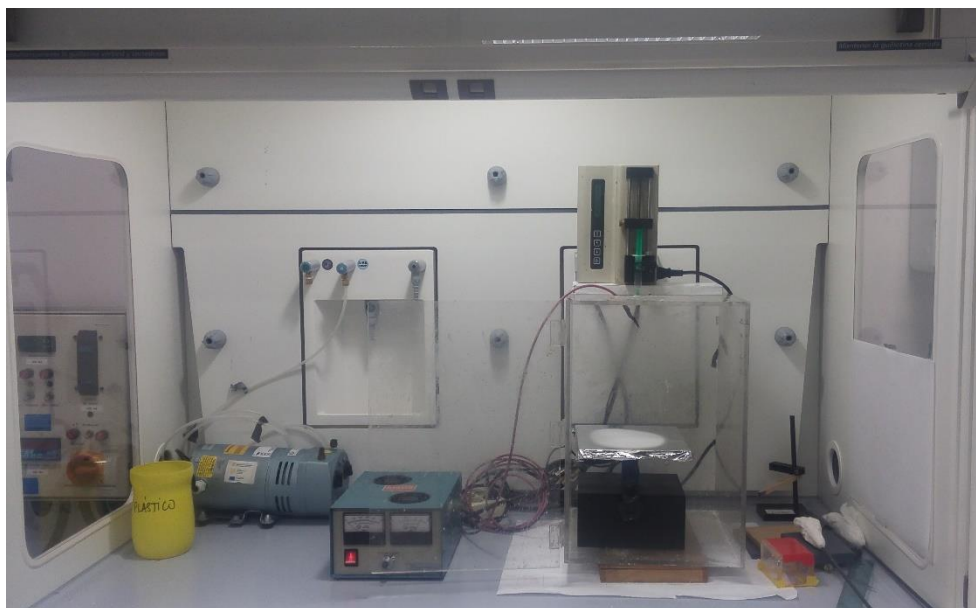


Figura 13. Setup electrospinning uniaxial.

La primera de ellas es la fuente de alimentación de alto voltaje, la cual se encarga de generar la diferencia de potencial eléctrico entre la aguja y el colector. Su rango va de 0 a 30 kV, y es importante no trabajar en el límite del rango ya que puede dar problemas en el sistema. Otra de las partes del sistema es la bomba de desplazamiento, un dispositivo electrónico cuya función es desplazar el émbolo de la jeringa de manera constante según la velocidad que se haya programado.

Otro de los elementos del sistema es la jeringa, y las utilizadas en este TFG, son las *BD Discardit II* o las *Braun Injekt*, ambas de 5 o de 10 mL.

La cuarta parte del sistema son las agujas hipodérmicas utilizadas. El calibre de las agujas usadas se mide en *Gauge*, que es una escala que procede de una escala inglesa de alambres. Para el *electrospinning* uniaxial, en el caso de las fibras del núcleo y de la cubierta, se han utilizado la 21G y las agujas 18G y 14G para la última. Según el sistema *Birmingham Wire Gauge*, la 21G (aguja verde oscuro) tiene un diámetro exterior e interior de 0,8192 y de 0,514 mm respectivamente. En el caso de las agujas utilizadas en la cubierta, la 18G (aguja rosa), sus diámetros exterior e interior son de 1,270 y de 0,838 mm mientras que la 14G (aguja verde clara), tiene un diámetro exterior e interior de 2,108 y de 1,600 mm.

La última parte es el colector, el cual se encuentra dentro de una caja protectora para aislar el contacto directo mientras se realiza el proceso. Su función es recolectar las fibras obtenidas.

En el caso del *electrospinning* coaxial, éste también consta de 5 partes pero con algunas variaciones, como se observa en la [Figura 14](#).

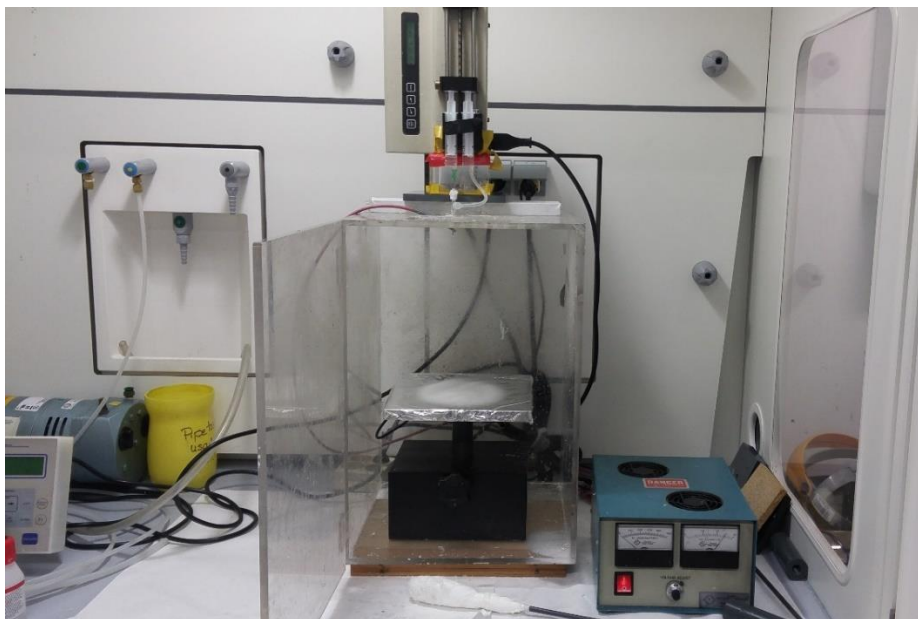


Figura 14. Setup electrospinning coaxial con una bomba de desplazamiento.

Para la preparación de este *setup*, pese a que se continúa utilizando únicamente una bomba de desplazamiento, ésta tiene lugar para dos jeringas (la del núcleo y la de la cubierta). Debido a la ausencia de un aparato bifásico mecanizado y metálico, el Dr. Luis Javier del Valle, inventó un prototipo efectivo de la técnica. La única novedad respecto al anterior sistema es la goma que se necesita para la jeringa de la cubierta.

El último de los *setups* utilizados en este TFG, ha sido el del *electrospinning* coaxial con dos bombas de desplazamiento. La utilidad que tiene el uso de este *setup*, es que se puede regular la velocidad del flujo de ambas disoluciones, tanto la del núcleo como la de la cubierta. Como se observa en la [Figura 15](#), lo que cambia respecto al esquema de la [Figura 14](#), no es más que el uso adicional de una bomba de desplazamiento.

El procedimiento llevado a cabo en los tres esquemas es similar. Primeramente, se carga la jeringa con la solución polimérica preparada en su correspondiente bomba de desplazamiento. Seguidamente se cubre con papel de aluminio la superficie colectora y se conectan a la fuente de alimentación tanto la aguja como la superficie colectora. Posteriormente se añade un cubreobjetos al colector para el posterior análisis de la muestra. Se enciende la bomba y se define la jeringa utilizada, el flujo y el volumen de la solución. Cuando caen tres gotas estables, se enciende la fuente de alimentación y se regula el voltaje. Hay que observar que el cono de Taylor sea estable y se recoge muestra sobre el cubreobjetos, para su análisis en el microscopio.

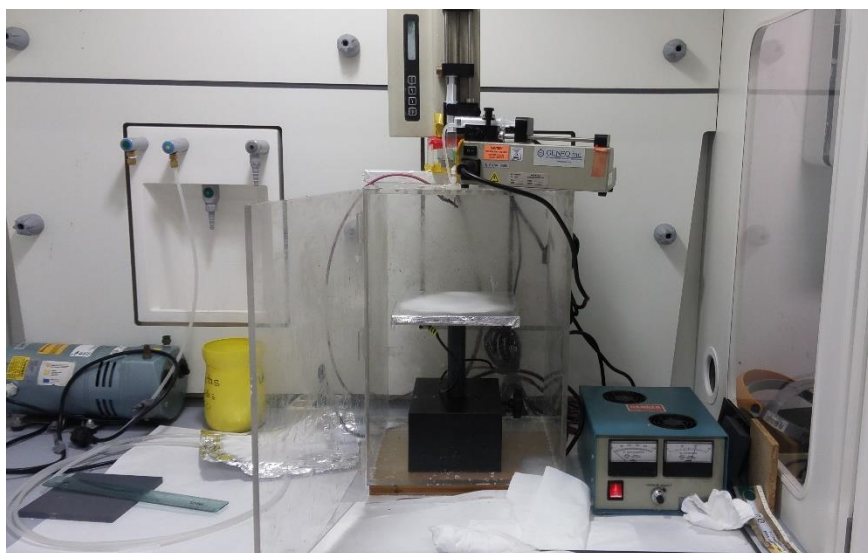


Figura 15. Setup electrospinning coaxial con dos bombas de desplazamiento.

5.4.2. Microscopía óptica (OM)

Para evaluar la apariencia de las fibras, recogidas en el portaobjetos, del *electrospinning* se ha utilizado el microscopio óptico *Carl Zeiss Axioskop 40* y la cámara digital para tomar las micrografías ha sido la

Zeiss AxioCam MRc5 (Figura 16). El software utilizado para la caracterización de las muestras ha sido el *AxioVision AC*.

El microscopio óptico basa su mecanismo en la transmisión de luz visible a través de un sistema óptico de lentes, prismas o espejos. La imagen se forma por la transmisión de los rayos provenientes de una fuente luminosa a través del objeto. Los rayos luminosos atraviesan el diafragma que delimita el diámetro del haz de luz que penetra por el condensador. El condensador está formado por un sistema de lentes convergentes que concentra y proyecta el haz lumínico sobre el objeto a examinar, a través de la platina. El objetivo recoge la luz que atravesó el objeto examinado y proyecta una imagen real, invertida y aumentada que se forma dentro del tubo y que es recogida por la segunda lente que es el ocular, la cual se encarga de formar una imagen virtual, invertida y aumentada del objeto examinado.

Dentro de los microscopios ópticos, el menos usado es el microscopio simple, ya que éste no es más que una lupa que está formada por un soporte y una lente biconvexa que produce pocos aumentos y escaso poder de resolución. El más utilizado es el microscopio óptico compuesto debido a su alto poder de resolución, del orden de 1500 a 2000 aumentos.

El microscopio óptico usado en el laboratorio está compuesto por dos sistemas de lentes convexas, con tres objetivos de 10, 20, 40 aumentos y el ocular. Gracias a la microscopia óptica se puede realizar una observación inicial de las fibras recogidas en el portaobjetos y poder realizar una primera valoración de éstas. Pese al análisis que se pueda realizar de las fibras, el microscopio óptico no sirve para calcular el diámetro de éstas ni tampoco para analizar la morfología de las fibras que se analizaran posteriormente mediante la microscopía electrónica de barrido (SEM).

Las instrucciones para el manejo del M.O son las detalladas a continuación. Primeramente, se encendía el software *AxioVision AC*. Seguidamente, se colocaba el portaobjetos con las muestras debajo de los objetivos y se realizaban las fotografías a 20 y a 40 aumentos.

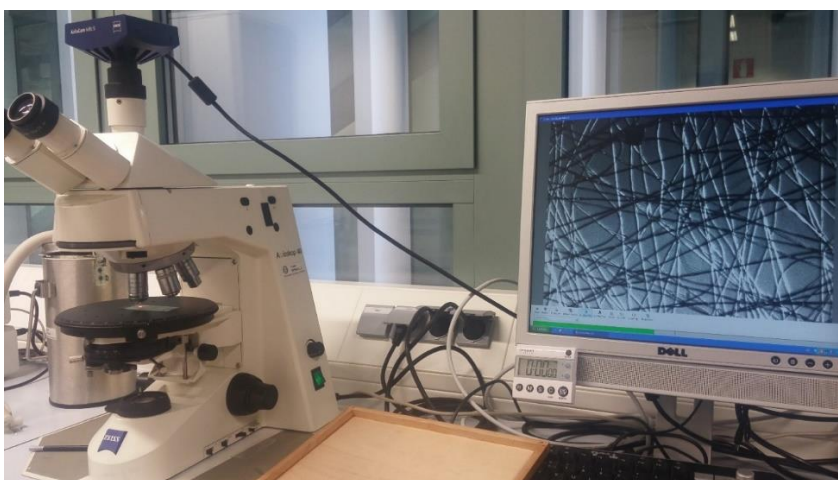


Figura 16. Equipo de microscopía óptica Carl Zeiss Axioskop 40.

5.4.3. Microscopio electrónico de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM), utiliza un haz enfocado de electrones de alta energía para generar diversas señales en la superficie de especies sólidas. Las interacciones electrón-átomos de la muestra derivan señales que revelan información sobre la muestra analizada (morfología externa, composición química, estructura cristalina, etc.). En la mayoría de aplicaciones, los datos se recopilan en un área seleccionada de la superficie de la muestra, y se genera una imagen bidimensional que muestra variaciones espaciales en estas propiedades.

La técnica del SEM se basa en los electrones que son producidos mediante un cañón de electrones, los cuales son acelerados por un campo eléctrico a un voltaje de 5 kV, que generaran una imagen. Estos electrones se proyectan contra la muestra, con la que interaccionan y provocan la repulsión de electrones secundarios. Estos electrones son captados por un detector constituido por electroimanes que los registra y procesa una imagen digital de la muestra.

La morfología de las muestras se ha observado utilizando un haz de electrones focalizado (FIB) modelo *Neon 40*, fabricado por la compañía *Carl Zeiss SMT GmbH*. Para que la técnica del SEM se pueda aplicar sobre el material es necesario que la muestra sea conductora. En el caso que estas no lo fuesen, se ha de aplicar un recubrimiento conductivo, el cual consiste en un film de oro o carbono de aproximadamente 5-7 nm de espesor. El recubrimiento evita que la formación de la carga eléctrica, debido a la baja conductividad del polímero, sobre la muestra interaccione con el haz de electrones incidente. Si esta interacción ocurriese, las imágenes se distorsionarían. El dispositivo que se ha encargado del recubrimiento ha sido la cámara de pulverización catódica *Mitec K950*.

5.4.4. Inhibición del crecimiento bacteriano

El estudio de la liberación de los bacteriófagos se ha realizado mediante dos métodos.

El primer método empleado, es el método de inhibición del crecimiento bacteriano en placas de agar. Este método únicamente se utilizó para observar de manera cualitativa la actividad antibacteriana de las fibras uniaxiales de PEG en Cloroformo/*Phagestaph*TM y PEG en Cloroformo/Cóctel de fagos al 25% w/w. Este tipo de ensayo consiste en preparar un medio semisólido propicio para el crecimiento bacteriano, añadiendo agar a un caldo de cultivo y dejándolo gelificar en el interior de una placa de Petri.

Para la realización de este ensayo, primeramente se pesaron 30 g de la matriz electrohilada y se añadieron a un *ependorf*. Seguidamente se añaden al *ependorf* 100 µL de agua estéril para disolver la matriz. Después se prepara una disolución seriada hasta 10^{-10} de la disolución inicial (10^0). Posteriormente, se hace la siembra bacteriana de una disolución que contiene 100 µL de la bacteria

Staphylococcus Aureus en 10 mL de caldo de cultivo. Para que la siembra sea lo más homogénea posible, se ha utilizado un bastoncillo de algodón para extenderla. Se deja secar la placa en una estufa a 37 °C durante 15-20 minutos. Cuando ya han pasado 20 minutos, se pipetea 5 µL de cada una de las diluciones preparadas en diferentes cuadrados de la placa de agar y se deja la placa en la estufa a 37 °C durante 24 horas. Este procedimiento se realiza de la misma manera, pero sembrando en la placa de agar pertinente, para la bacteria gram negativa *Pseudomonas aeruginosa*.

Después de 24 horas, en las placas deberían aparecer halos de inhibición a las diferentes concentraciones cuadradas de la placa de Petri. El área de inhibición es un indicativo de la muerte bacteriana, mientras que las regiones en las que no aparece el halo indican que el crecimiento bacteriano se ha desarrollado con normalidad. Los resultados obtenidos mostraban que solo había muerte bacteriana con la bacteria *Staphylococcus Aureus* (Figura 17), mientras que en el caso de la placa que contenían las *Pseudomonas aeruginosa* los bacteriófagos no dejaban halos de inhibición. Por esa razón, para el segundo método cuantitativo únicamente se utilizó el bacteriófago *Phagestaph*TM, específico para la bacteria *Staphylococcus Aureus*.

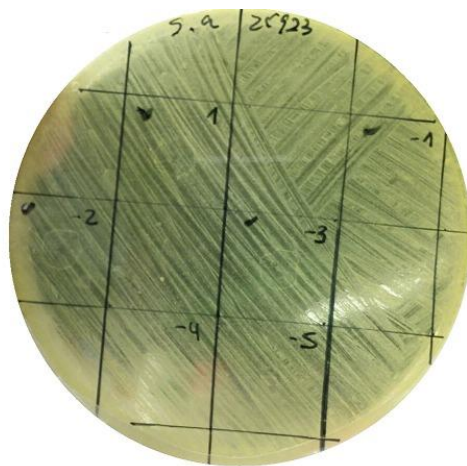


Figura 17. Ensayo de liberación en una placa de Petri para la bacteria *Staphylococcus Aureus*.

En el segundo método, utilizado para las fibras coaxiales, los ensayos de liberación se realizan en caldo (medio líquido) de cultivo. Para esta técnica de liberación, primeramente, se ha preparado una disolución de PBS (fosfato buffer salino) añadiendo 0,995 g en 100 mL de agua. Esta solución se ha filtrado y guardado en un recipiente estéril. Seguidamente se ha depositado en *ependorfs* entre 0,2 y 0,3 mg de las matrices de fibras coaxiales acumuladas y se han disuelto en 1 mL de PBS. Posteriormente se han extraído 200 µL de cada *ependorf* y se han colocado en uno de los 96 pozos de la microplaca para fijarlo como tiempo de medida inicial (0 horas). Con el objetivo de mantener el volumen constante durante todo el proceso, cada vez que se extraían los 200 µL de cada *ependorf* se le volvían a añadir otros 200 µL de PBS. Los *ependorfs* se han dejado en agitación a una temperatura de 37 °C y la

multiplaca se ha guardado en la nevera a 4 °C. Se ha repetido el procedimiento descrito cada dos horas durante las 12 primeras, con dos lecturas más a 24 y 48 horas.

La preparación de los cuatro pozos controles se describen a continuación:

1. Medio: Se añaden 200 μL de la disolución de PBS y 50 μL de medio BHI solo.
2. Medio + Bacteria: Se añaden 200 μL de la disolución de PBS y 50 μL de medio con 1000 bacterias para obtener una cantidad aproximada de 50 bacterias en cada micropocillo.
3. Medio + bacteriófago: Se añade 50 μL de medio BHI solo y 200 μL de medio BHI con los bacteriófagos.
4. Medio + Bacteria + Bacteriófago: Se añaden 200 de medio BHI con *Phagestaph*TM y 50 μL de medio con 1000 bacterias.

Después, se añaden 50 μL de medio con 1000 bacterias con una pipeta multicanal (8 canales) al resto de micropocillos restantes de la multiplaca. La obtención de las bacterias, se realiza añadiendo 200 μL de caldo BHI con la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en un vial de 10 mL de medio. El extracto de caldo de cultivo utilizado de *Scharlau*, se ha preparado reconstituyendo 37 g del extracto en 1L de agua ultrapura y posteriormente se ha esterilizado en un autoclave.

Tabla 4. Composición del caldo BHI (Braun Heart Infusion Broth).

Componente	Proporción
	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
Cerebro	12,5
Corazón	5
Peptona	10
Dextrona	2
Cloruro de sodio	5
Difosfato de sodio	12,5

Finalmente, se ha estudiado el crecimiento bacteriano de cada uno de los pozos en un lector de microplacas ELISA (Figura 18). El crecimiento de las bacterias se basa en la técnica turbidimétrica, donde la turbidez puede ser medida por la absorbancia. Para esta evaluación, las absorbancias medidas han sido a 595 y a 450 nm a tiempo 0h. La microplaca se pone en la estufa a 37 °C y se realizan lecturas de las absorbancias cada 2 horas durante las primeras 10 primeras horas, con tres repeticiones finales tras 24, 48 y 72 horas.

El protocolo de funcionamiento del lector de microplacas ELISA ha sido el que se detalla a continuación. Primero, se tenía que encender el lector ELISA 5 minutos antes de cada lectura. Pasado este tiempo, se daban unos golpes a la multiplaca para quitar el sedimento del fondo de los micropocillos causado

por las bacterias. Seguidamente, se encendía el software *ADAP* y se fijaba la multiplaca. Se le daba *play* al software y se medía la absorbancia a 595 nm. Cuando se han leído todas las absorbancias, se copiaban los datos al Excel y se repetía el mismo procedimiento a 450 nm.

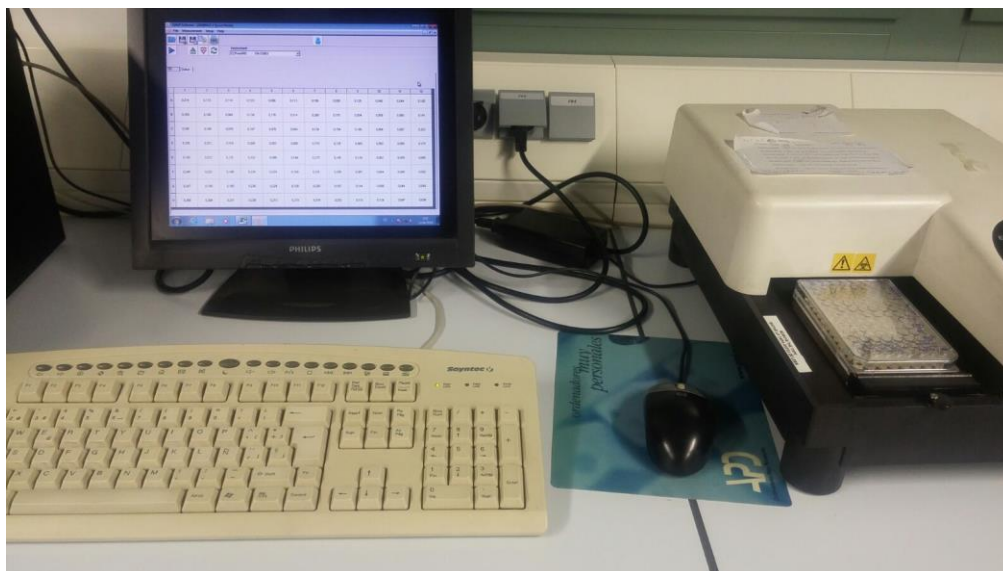


Figura 18. Lector ELISA.

5.4.5. Espectroscopia de infrarrojo (IR)

La espectrometría de infrarrojos (IR) es un tipo de espectroscopia que trata con la parte infrarroja del espectro electromagnético. La espectroscopia infrarroja es una técnica de análisis cuyo objetivo es la identificación de grupos funcionales de materiales orgánicos e inorgánicos que constituyen la muestra, que puede ser tanto sólida como líquida.

Esta técnica se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específica, que corresponden a niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias resonantes dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y eventualmente del acoplamiento vibracional. Si la molécula recibe luz con la misma energía de esa vibración, entonces la luz será absorbida si se dan ciertas condiciones. Para que una vibración aparezca en el espectro IR, la molécula debe someterse a un cambio dipolar en su vibración.

Los modos de vibración de las moléculas pueden ser de dos tipos: de tensión o de flexión. Las vibraciones de tensión aparecen cuando hay un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión se producen cuando hay un cambio en el ángulo entre dos enlaces. Existen cuatro tipos de vibraciones de flexión: de balanceo, de tijereteo, de aleteo y de torsión.

Como se ha indicado, las vibraciones moleculares consisten en modos de tensión y flexión. Una molécula que consta de N número de átomos tiene un total de $3N$ grados de libertad, los cuales corresponden a las coordenadas cartesianas. En una molécula lineal hay $3N-5$ grados de libertad, ya que todos los átomos se encuentran en una línea recta y no es posible la rotación alrededor del eje de la unión. Las moléculas no lineales, en cambio, al poder rotar alrededor del eje presentan $3N-6$ grados de libertad.

El equipo utilizado para registrar los espectros de infrarrojo ha sido el espectrofotómetro *FTIR Jasco 4100* (Figura 19), cuyo rango espectral va de los 600 a los 4000 cm^{-1} . Las muestras se colocaron en un accesorio de reflectancia total atenuado con control térmico y un cristal de diamante (*Specac MKII Golden Gate Heated Single Reflection Diamond ATR*). Otro de los accesorios empleados ha sido el *ZnSe lenses + High Stability Temperature Controller* (West 6100). El software utilizado para el análisis de los datos ha sido el *Spectra Manager*TM.

El protocolo seguido en el laboratorio ha sido el siguiente:

1. Abrir el software *Spectra Manager* y realizar un *background* del equipo con el ATR abierto.
2. Poner la muestra, cerrando el ATR, y con el *Spectra Measurement* hacer un *sample*.
3. Con el *Spectra analysis* se realizaba un *Baseline* para corregir la línea base.
4. Guardar el espectro en formato *jws* y exportarlo en formato ASCII para abrirlo en formato texto.

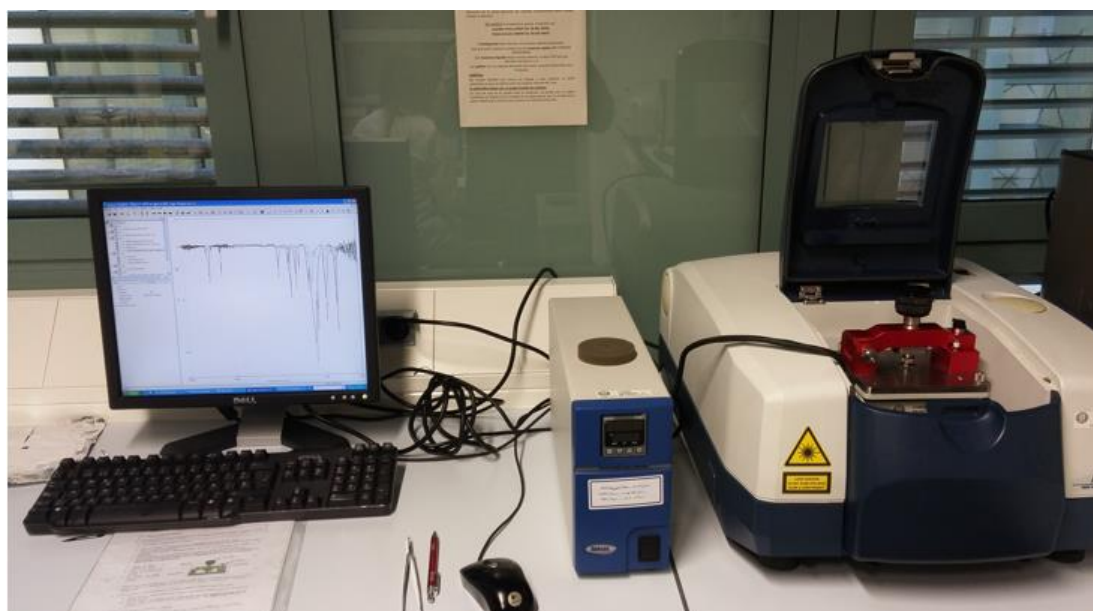


Figura 19. Equipo de espectrometría FTIR Jasco 4100.

6. Fibras de polietilenglicol (PEG) en agua

6.1. Metodología

Para determinar concentración más adecuada de PEG disuelta en agua, se ha partido de los datos que utilizó N. Rodrigo en su TFG “Incorporación de bacteriófagos en micro/nanofibras de polietilenglicol y ácido poliláctico mediante electrospinning” [38]. En éste, se estableció que la concentración idónea del PEG en agua es del 50%. Partiendo de este dato, se procedió a preparar la disolución en el laboratorio de la siguiente manera:

1. Cálculo de la masa de solvente y de polímero para realizar la disolución polimérica.
2. Verter en un vial de 20 mL la cantidad de PEG según la concentración idónea (50%).
3. Añadir la masa del disolvente calculado mediante la ayuda de una pipeta *Pasteur*.
4. Cerrar el vial y ponerle *parafilm* para asegurarse que esté bien cerrado.
5. Dejar la muestra en agitación y a 37 °C durante 24 horas.

Una vez preparada la muestra, se ha procedido a realizar un barrido variando los diferentes parámetros operacionales (distancia entre la punta de la aguja y el colector, flujo de salida, voltaje) para poder evaluar los *scaffolds* obtenidos. Los que se requieren para considerarlos óptimos para trabajar con ellos son los que presenten fibras uniformes y que no aparezcan gotas en ellas ya que éstas provocan la no homogeneidad de las fibras.

Tabla 5. Ensayos de electrospinning uniaxial realizados con PEG en agua y en BHI.

Muestra	Disolvente	Polímero % (w/w)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	Agua	50	9	2	15	
2		50	9	2	20	
3		50	9	2	25	
4		50	9	5	15	
5		50	9	5	20	
6		50	9	5	25	
7		50	9	10	15	
8		50	9	10	20	
9		50	9	10	25	
10		50	15	2	15	
11		50	15	2	20	
12		50	15	2	25	
13		50	15	5	20	
14		50	15	5	25	Buenas fibras
15		50	15	10	15	

16		50	15	10	20	
17		50	15	10	25	
18		50	22,5	0,5	15	
19		50	22,5	2	15	
20		50	22,5	2	20	
21		50	22,5	2	25	
22		50	22,5	5	15	
23		50	22,5	5	20	
24		50	22,5	5	25	Buenas fibras
25		50	22,5	10	15	
26		50	22,5	10	20	
27		50	22,5	10	25	Buenas fibras
28	BHI	50	22,5	0,5	20	
29		50	22,5	0,5	25	
30		50	22,5	1	15	
31		50	22,5	1	20	
32		50	22,5	1	25	
33		50	22,5	0,02	28	Obtención de fibras sin gotas

Las condiciones señaladas en negrita de la [Tabla 5](#) indican las condiciones idóneas del electrohilado. Todas se realizaron con la aguja 21G.

Tras realizar el barrido con las diferentes condiciones mostradas en la [Tabla 5](#), se ha procedido a determinar qué exigencias seleccionar para poder realizar una primera criba de los diferentes ensayos según los siguientes requisitos:

1. Formación del cono de Taylor regular.
2. Ausencia de gotas para producir unas fibras homogéneas.
3. Fibras uniformes y largas de diámetro relativamente homogéneo.
4. Máximo flujo y máxima distancia posible.
5. Voltaje dentro del rango de trabajo (0-30 kV).

Los dos primeros requisitos son imprescindibles para considerar que el electrohilado es correcto y que los *scaffolds* con ausencia de gotas producen fibras homogéneas. Las fibras uniformes y largas dan lugar a que se pueda considerar las condiciones operacionales como óptimas. Operar con el mayor flujo tiene como objetivo minimizar el tiempo de la preparación del *scaffold*. El voltaje ha de estar dentro del rango de trabajo (0-30 kV) intentando no trabajar en los límites para evitar problemas de funcionamiento con la bomba.

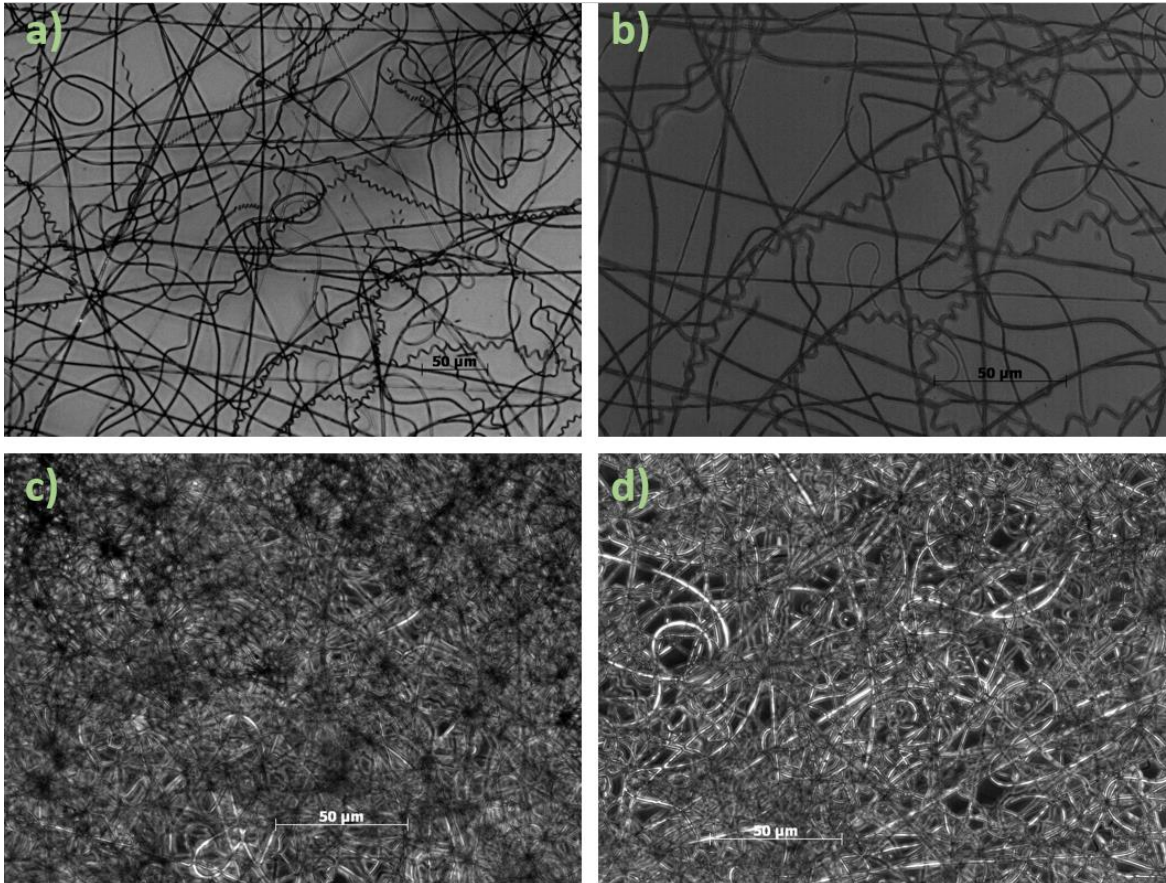


Figura 20. Imágenes en M.O de las fibras de PEG según las condiciones operacionales. a) Muestra 14 (20x) (Tabla 5), b) Muestra 14 (40x) (Tabla 5), c) Muestra 27 (20x) (Tabla 5), d) Muestra 24 (20x) (Tabla 5).

6.2. Análisis y discusión de resultados

En la Figura 20, se muestran las imágenes de las muestras que han pasado de los requisitos comentados en el apartado 6.1. Estas se han obtenido mediante microscopia óptica (M.O), técnica idónea para una caracterización inicial de las fibras. Las imágenes obtenidas que se han descartado por defectos varios (obtención de gotas debido a altos flujos y tensiones bajas que hacen que la gota no se haya podido estirar para formar la fibra, fibras con *beads* o que el cono de Taylor no sea uniforme) se muestran en el Anexo I.

Como se puede observar en las condiciones de la Tabla 5, las matrices óptimas coincidían a una altura de 22,5 cm y a un voltaje de 25 kV. Pese que se obtuvieron fibras uniformes y homogéneas tanto a un flujo de 5 como de 10 mL/h, finalmente se apostó por el flujo a 5 mL/h ya que en alguna ocasión al recoger las fibras se desprendía alguna gota cuando el caudal era de 10 mL/h.

La caracterización final de la fibra escogida a las condiciones operacionales de 22,5 cm, 25 kV y un flujo de 5 mL/h, se realizó mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) con la finalidad de estudiar

su morfología. En la [Figura 21](#), concretamente en la micrografía b) a 2500 aumentos, se puede observar como la mayoría de las fibras de PEG de 35000 g/mol en agua son estrechas y son tabicadas. En la micrografía d), se observa que las fibras no son completamente lisas si no que éstas presentan rugosidades.

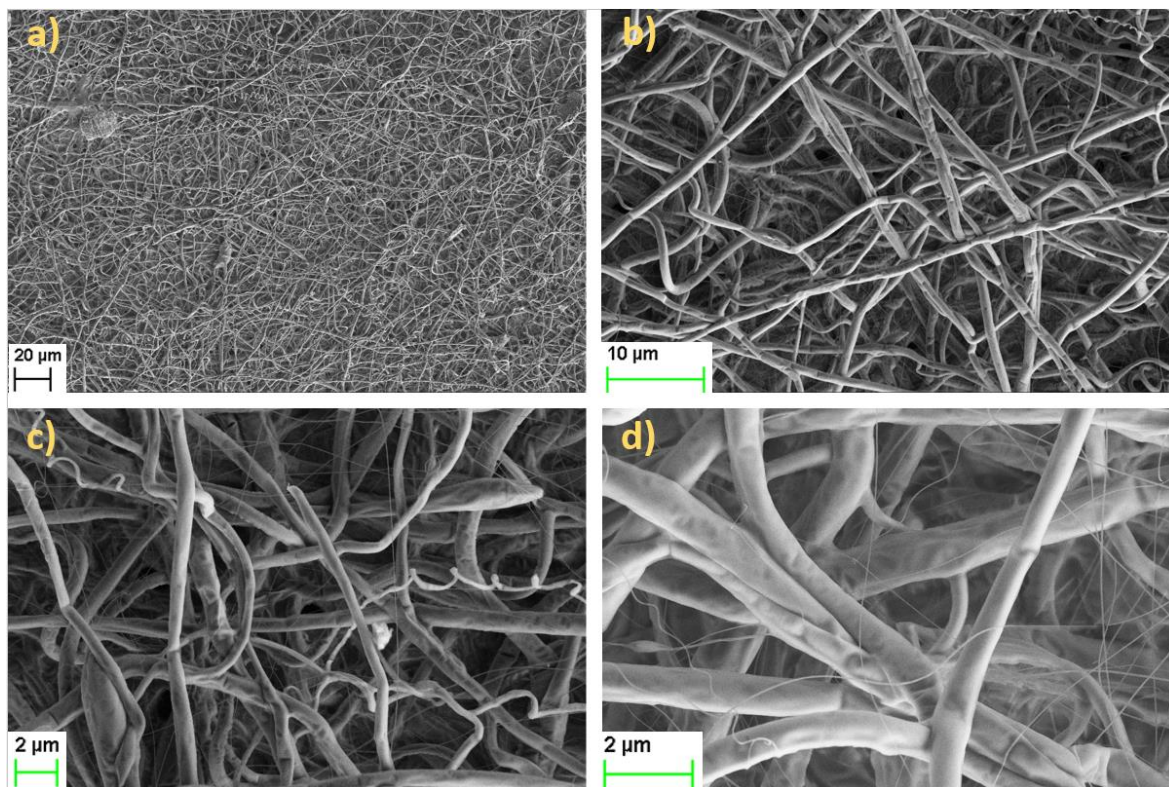


Figura 21. Morfología de las fibras de PEG en agua. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 2500 aumentos, c) Vista a 5000 aumentos, d) Vista a 10000 aumentos.

Para expresar numéricamente la homogeneidad de las fibras, se realizó el análisis de las distribuciones de los diámetros de las fibras mediante las imágenes obtenidas por la técnica de SEM. El diámetro medio de las fibras nos informa sobre la homogeneidad de éstas. Para realizar un buen estudio estadístico de la distribución de los diámetros, se ha de escoger un número significativo de fibras medidas de las muestras óptimas escogidas. Este número varía entre las 75 y 100 medidas, estas han de ser en diferentes zonas de la matriz, y se ha de evitar medir repetidamente una misma fibra. La medición de los diámetros se hizo utilizando el programa *SmartTiff*, que pertenece a la compañía *Carl Zeiss SMT GmbH*. El estudio estadístico se realizó mediante el programa *Origin*, (*OriginLab Corporation*) que permite el cálculo de la distribución de los diámetros y la representación de los histogramas mostrados en la [Figura 22](#).

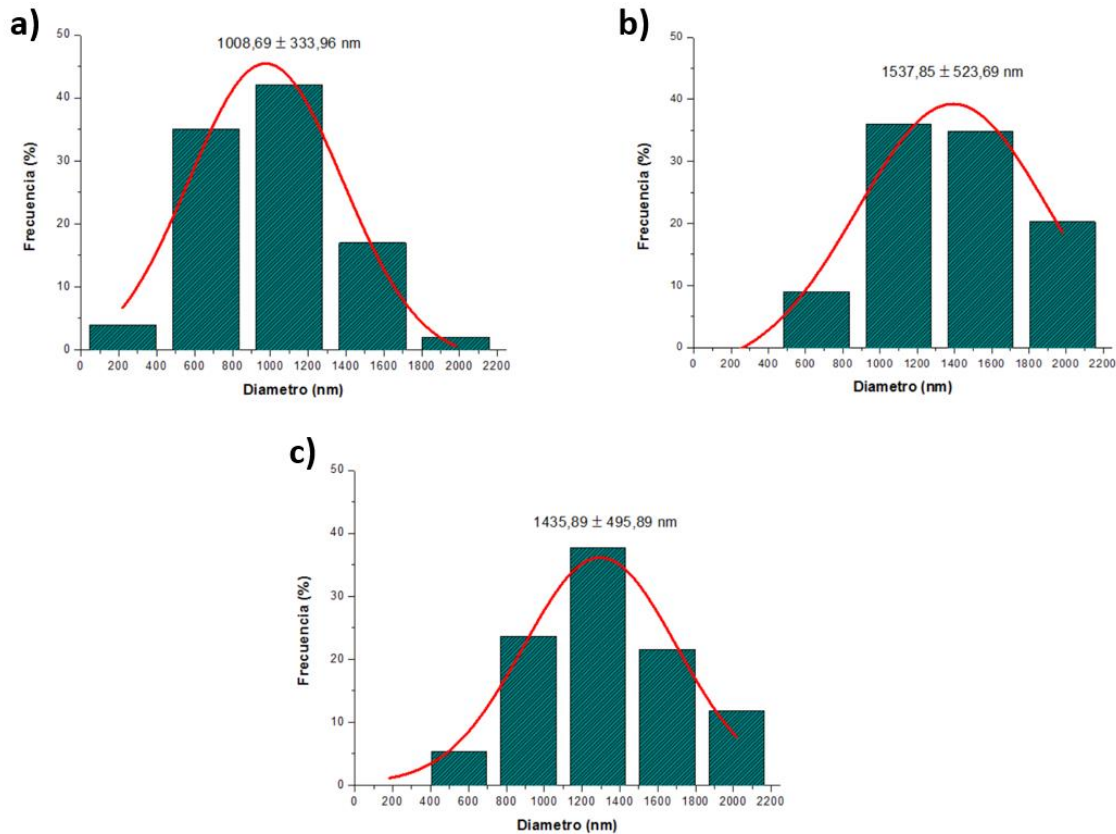


Figura 22. Distribución de los diámetros de las fibras de PEG en agua bajo las condiciones óptimas. a) Muestra 14, b) Muestra 24, c) Muestra 27. Todas las muestras pertenecen a la [Tabla 5](#).

En los tres casos se puede observar que la distribución de los diámetros de las nanofibras es Gaussiana. Los tres gráficos muestran distribuciones unimodales, lo que significa que las fibras tienen forma uniforme. Todas las matrices presentan una desviación estándar pequeña respecto al valor promedio de los diámetros, lo que remarca el hecho de gran uniformidad entre las fibras.

Entre las diferencias que muestran las distribuciones, se observa que la curva de distribución de diámetros es más amplia en la [Fig-22 b y c](#), y por consiguiente el diámetro de las fibras en ambos casos aumenta, dato que se ve reflejado en el valor promedio de los diámetros. Los dos histogramas mencionados corresponden a las matrices electrohiladas a una distancia de 22,5 cm, 25kV y un flujo de 5 y 10 mL/h.

Mediante la técnica de espectroscopia infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), se han analizado las bandas de absorción correspondientes al PEG 35000 g/mol y a las fibras uniaxiales de PEG en agua electrohiladas al 50% w/w, tal y como se observa en la [Figura 23](#).

El espectro del PEG presenta una banda ancha no pronunciada sobre los 3400 cm^{-1} , que corresponde al grupo hidroxilo terminal (OH). La banda presente a 1093 cm^{-1} corresponde al grupo funcional éter. Los picos característicos del PEG a 2877 , 1470 , 1341 , 1277 , 958 y 838 cm^{-1} son bandas de absorción referentes al grupo metileno ($-\text{CH}_2$) y son vibraciones tanto de estiramiento como de deformación.

No se aprecia ninguna diferencia en el espectro b) de la [Figura 23](#), que corresponde a las fibras de PEG en agua, ya que no se detectan desplazamientos de banda indicativos de nuevas interacciones intermoleculares.

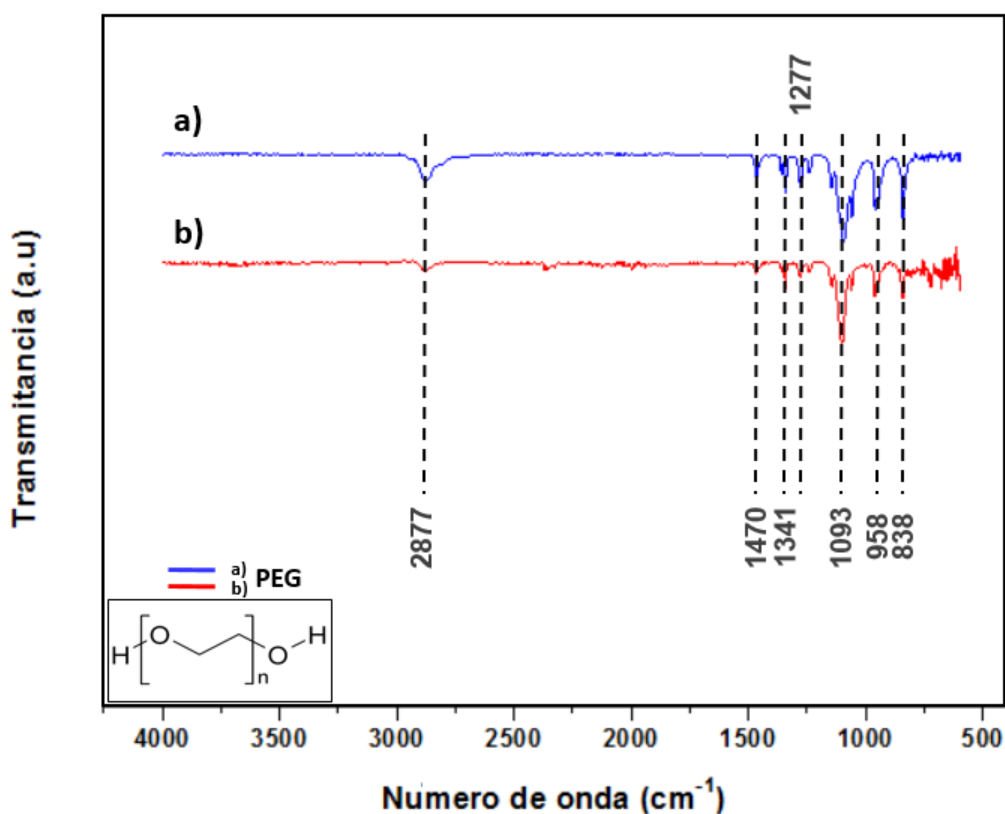


Figura 23. Espectro IR de PEG 35000 g/mol (a), PEG 50% en agua (b).

7. Fibras de ácido poliláctico (PLA)

7.1. Metodología

Para obtener fibras uniaxiales de PLA mediante el *electrospinning* convencional, se han realizado diferentes pruebas con dos disolventes diferentes (Cloroformo y HFIP) a diferentes concentraciones, flujos, voltajes y alturas para ver con qué disolución se podían obtener mejores fibras y también para tener un plan B en caso que el disolvente escogido no funcionase adecuadamente cuando se realizase el *electrospinning* coaxial.

La preparación de ambas disoluciones es prácticamente idéntica y solo varía en que la concentración es diferente. A continuación se detallan los pasos seguidos en el laboratorio:

1. Cálculo de la masa de solvente y de polímero para realizar la disolución polimérica.
2. Verter en un vial de 20 mL la cantidad de PLA según la concentración que se quiere obtener en cada disolución.
3. Añadir la masa del disolvente calculado mediante la ayuda de una pipeta *Pasteur*.
4. Cerrar el vial y ponerle *parafilm* para asegurarse que esté bien cerrado.
5. Dejar la muestra en agitación y a 37 °C durante 24 horas.

7.2. Análisis y discusión de resultados

Tal y como se ha explicado en el apartado anterior, hay que realizar un estudio para ver las condiciones óptimas de cada disolución y por ello a continuación se presenta una tabla completa con todas las pruebas realizadas. La aguja utilizada en todos los experimentos fue la 18G. Las condiciones marcadas en **negrita** son consideradas como las idóneas.

Tabla 6. Ensayos de *electrospinning* uniaxial realizados con PLA en HFIP.

Muestra	Disolvente	Polímero % (w/w)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	HFIP	9	15	2,5	15	Fibras con beads
2		9	15	2,5	20	Fibras con beads
3		9	15	2,5	25	Buenas fibras
4		9	15	5	15	Fibras con beads
5		9	15	5	20	Fibras con beads
6		9	15	5	25	Buenas fibras

7	9	15	10	15	Fibras con algunas gotas
8	9	15	10	20	Fibras con algunas gotas
9	9	15	10	25	Fibras con gotas
10	9	22,5	2,5	15	Buenas fibras
11	9	22,5	2,5	20	Buenas fibras
12	9	22,5	2,5	25	Buenas fibras
13	9	22,5	5	15	Buenas fibras
14	9	22,5	5	20	Buenas fibras
15	9	22,5	5	25	Buenas fibras.

Como para la realización del electrohilado de fibras coaxiales PEGc/PLAs se tenía previsto la utilización de una bomba de desplazamiento, se decidió hacer el barrido en condiciones similares a las que se realizó el PEG en agua (Tabla 5). Esto es debido a que ambas disoluciones únicamente podrán ser reguladas por un flujo, por lo tanto se ha de intentar que éste sea lo más similar posible tanto para el polímero del núcleo (PEG) como para el de la cubierta (PLA).

En la Tabla 6, se pueden ver todas las condiciones probadas para el *electrospinning* uniaxial del PLA en HFIP al 9% w/w. Se puede observar que a mayores distancias, la morfología de las fibras era mejor, ya que se pasa de tener fibras con *beads* a fibras uniformes en todas las condiciones a 22,5 cm de distancia entre la aguja y el colector. Este defecto mostrado a distancias pequeñas, es debido a que el líquido no realiza un recorrido lo suficientemente largo como para que se produzca la evaporación del disolvente.

Casualmente, las fibras óptimas uniaxiales han sido a 22,5 cm, 25 kV, y a 5 mL/h, condiciones idóneas también para el polímero del núcleo de la fibra, el polietilenglicol en agua. Pese a que las condiciones óptimas coinciden tanto para el polímero del núcleo como para el de la cubierta, es sabido que esta condición puede no ser la óptima para el *electrospinning* coaxial por otros parámetros de la técnica (voltaje, viscosidad de las disoluciones, distancia, flujos, etc.).

En la Figura 24 se muestran las micrografías ópticas obtenidas mediante el uso del microscopio óptico Carl Zeiss Axioskop 40. Gracias a este equipo, se puede hacer una primera criba de las condiciones probadas en la Tabla 6, ya que con esta técnica se puede descartar y conseguir una mejora en la calidad de las fibras (fibras sin *beads*, fibras uniformes, fibras con un diámetro homogéneo, etc.).

Los resultados obtenidos, son de dos de las mejores condiciones electrohiladas para la cubierta utilizando como disolvente el HFIP. Tanto para las imágenes de la muestra 14 como la 15, se ve que las fibras obtenidas son aceptables para ser utilizadas como condiciones óptimas. En ambos casos, no se muestran defectos en las fibras, y se ven fibras homogéneas en cuanto al diámetro y uniformidad entre ellas tanto a 20 como a 40 aumentos.

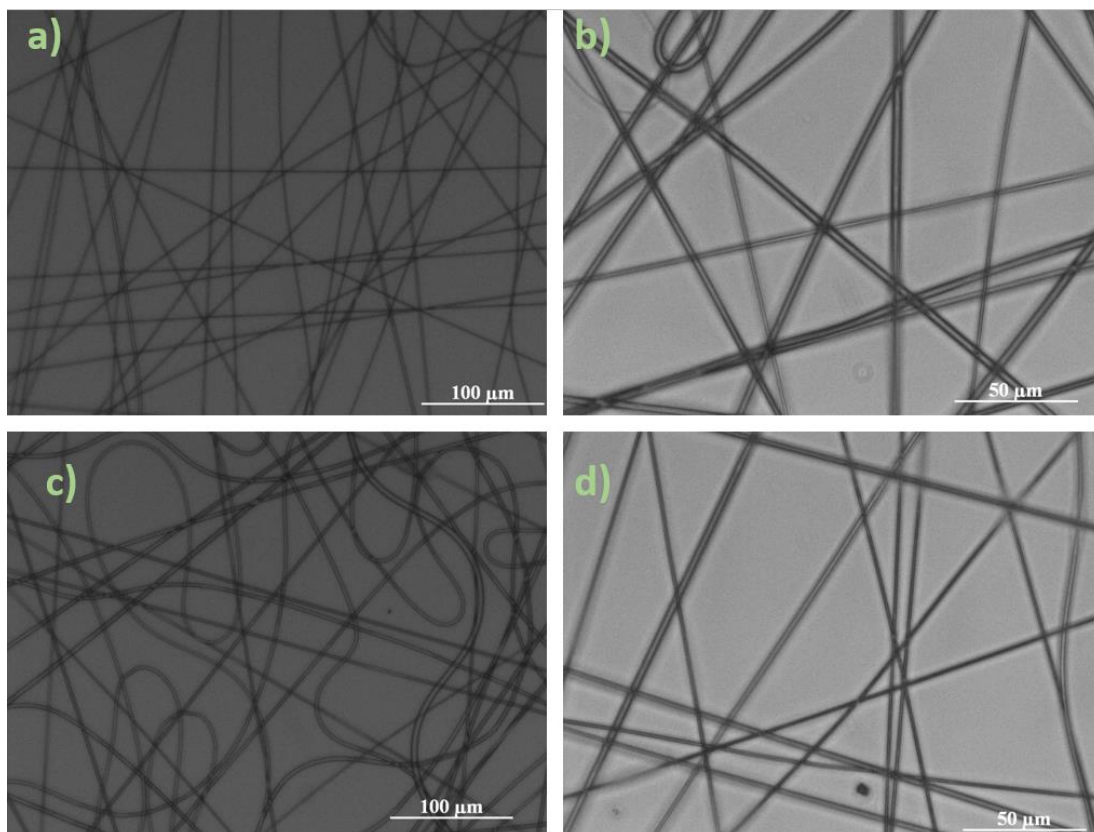


Figura 24. Imágenes de M.O de PLA en HFIP según las condiciones operacionales. a) Muestra 15 (20x) (Tabla 6), b) Muestra 15 (40x) (Tabla 6), c) Muestra 14 (20x) (Tabla 6), d) Muestra 14 (40x) (Tabla 6).

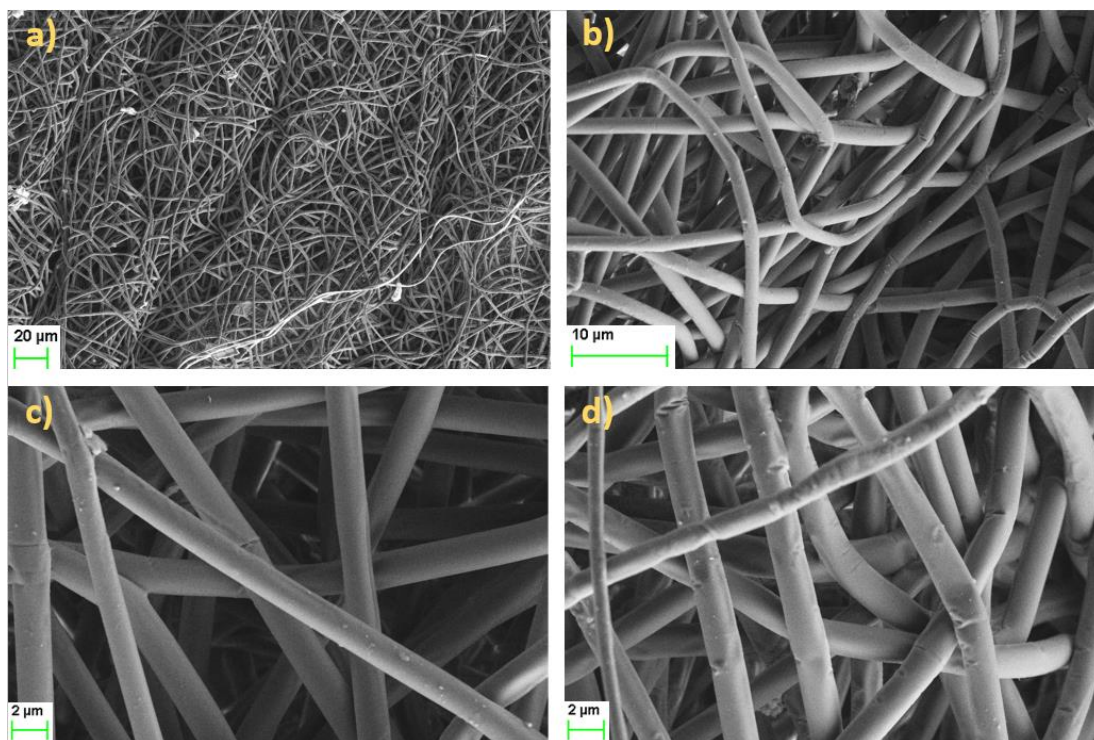


Figura 25. Morfología de las fibras de PLA en HFIP. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 3000 aumentos, c) Vista a 6000 aumentos, d) Vista a 6000 aumentos.

Las imágenes obtenidas por SEM (Figura 25) de las condiciones óptimas del PLA en HFIP muestran las características morfológicas de las fibras. En las micro/nano fibras del PLA se observan fibras rígidas y con una distribución de diámetro homogéneo como se puede ver en el histograma a) de la Figura 28. En las micrografías a altos aumentos, se ven rugosidades en la textura de las fibras, con estrías transversales en la superficie de las fibras.

Como se ha explicado al principio del apartado 7, se ha realizado el *electrospinning* uniaxial de la cubierta (PLA) con HFIP y otro disolvente diferente para ver si se obtenían también fibras uniformes y si posteriormente éste también se degradaba con la Lipasa. El segundo disolvente escogido fue el Cloroformo, y se le realizó un barrido de condiciones operacionales prácticamente idéntico al realizado con el HFIP mostrado en la Tabla 6. A continuación se presentan todos los ensayos realizados en el electrohilado convencional del PLA en Cloroformo al 7% w/w.

Tabla 7. Ensayos de electrospinning uniaxial realizados con PLA en cloroformo

Muestra	Disolvente	Polímero % (w/w)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	CHCl ₃	7	15	2,5	15	Fibras con beads
2		7	15	2,5	20	Buenas fibras
3		7	15	2,5	25	
4		7	15	5	15	Buenas fibras
5		7	15	5	20	
6		7	15	5	25	
7		7	15	10	15	
8		7	15	10	20	
9		7	15	10	25	
10		7	22,5	2,5	15	
11	CHCl ₃	7	22,5	2,5	20	Buenas fibras
12		7	22,5	2,5	25	Buenas fibras
13		7	22,5	5	15	Buenas fibras
14		7	22,5	5	20	
15		7	22,5	5	25	Buenas fibras
16		7	22,5	10	15	Buenas fibras
17		7	22,5	10	20	
18		7	22,5	10	25	Fibras con beads

La caracterización inicial para la mejora de las fibras y el estudio de la morfología de las fibras se ha realizado con el M.O y con el microscopio electrónico de barrido. Gracias al SEM, se pueden diferenciar a diferentes aumentos de cada muestra analizada características de las fibras como la porosidad, la rugosidad o las grietas que aparecen.

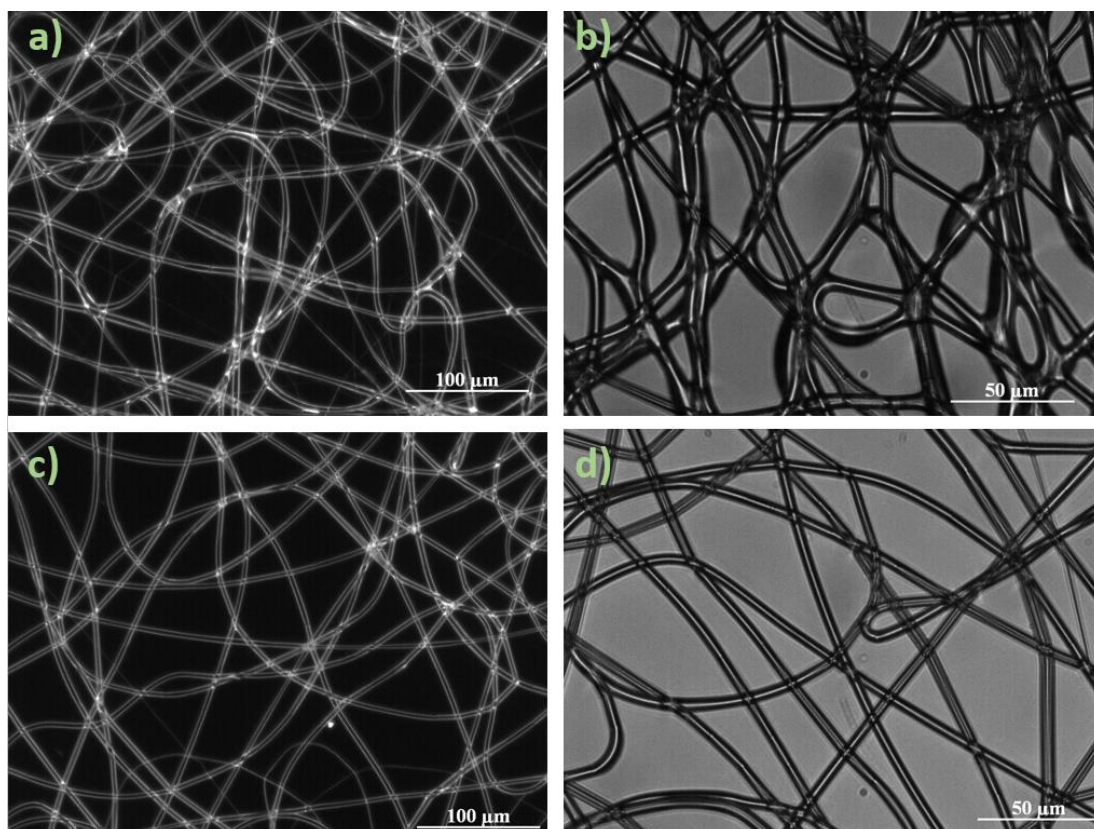


Figura 26. Imágenes de M.O de PLA en Cloroformo según las condiciones operacionales. a) Muestra 12 (20x) (Tabla 7), b) Muestra 18 (40x) (Tabla 7), c) Muestra 15 (20x) (Tabla 7), d) Muestra 15 (40x) (Tabla 7).

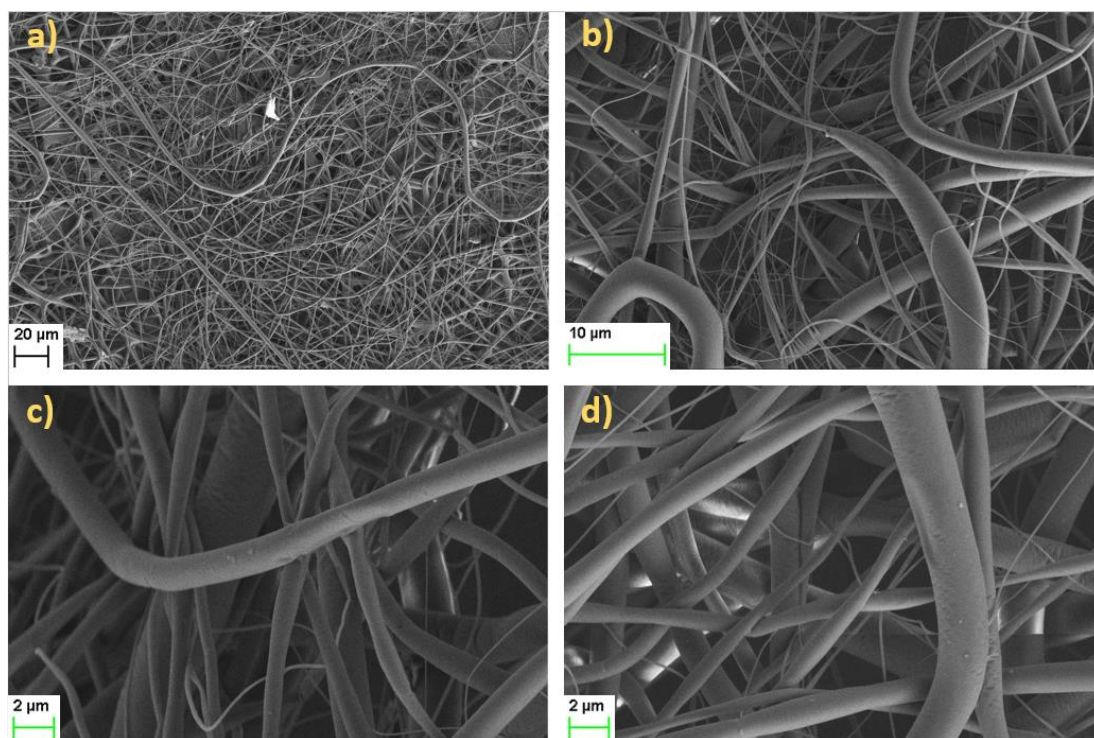


Figura 27. Morfología de las fibras de PLA en Cloroformo. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 3000 aumentos, c) Vista a 6000 aumentos, d) Vista a 6000 aumentos.

En la [Figura 26](#), aparece la mejora de las fibras gracias a la toma de decisiones que posibilita el M.O. Para la elección de los parámetros idóneos, los requisitos comentados para realizar la criba en el [apartado 6.1](#) han sido claves. Las fotografías c y d) pertenecen a la condición óptima a distintos aumentos del barrido realizado en la [Tabla 7](#). Sorprendentemente, la mejor condición del PLA en Cloroformo coincide con la condición óptima del electrohilado del PLA en HFIP, a unas condiciones operacionales de 22,5 cm, 25 kV y a 5 mL/h.

Respecto a la morfología de las fibras, en la [Figura 27](#), se observan las imágenes del SEM a diferentes aumentos de la condición óptima escogida. En la imagen a 3000 aumentos, se observa que el diámetro de las fibras no es uniforme, como se verá reflejado también en el histograma b) de la [Figura 28](#). De igual manera que las fibras del PLA en HFIP, las imágenes a altos aumentos de la morfología de las fibras en Cloroformo muestran fibras rígidas y con menos estrías y rugosidades con el uso de este disolvente.

A continuación se presenta el análisis de la distribución de los diámetros de las fibras uniaxiales electrohiladas del PLA con los dos disolventes utilizados realizados mediante el *software Origin 8*. Pese a que los dos histogramas presentan distribuciones Gaussianas, se puede observar como en el histograma a) ([Figura 28](#)) la curva de distribución de diámetros es uniforme y esto se ve reflejado en la pequeña desviación estándar que presenta la distribución respecto al valor promedio.

En el caso del segundo histograma, como se ha visto en las imágenes del SEM, los diámetros de las fibras no eran totalmente uniformes, y esto se ve reflejado en que la desviación estándar del valor promedio de los diámetros es mucho mayor en estas fibras que en el caso del PLA en HFIP. En este histograma se muestra que la población de la fibra es heterogénea por la variedad de tamaños en los diámetros que muestra, además de presentar una distribución mucho más amplia.

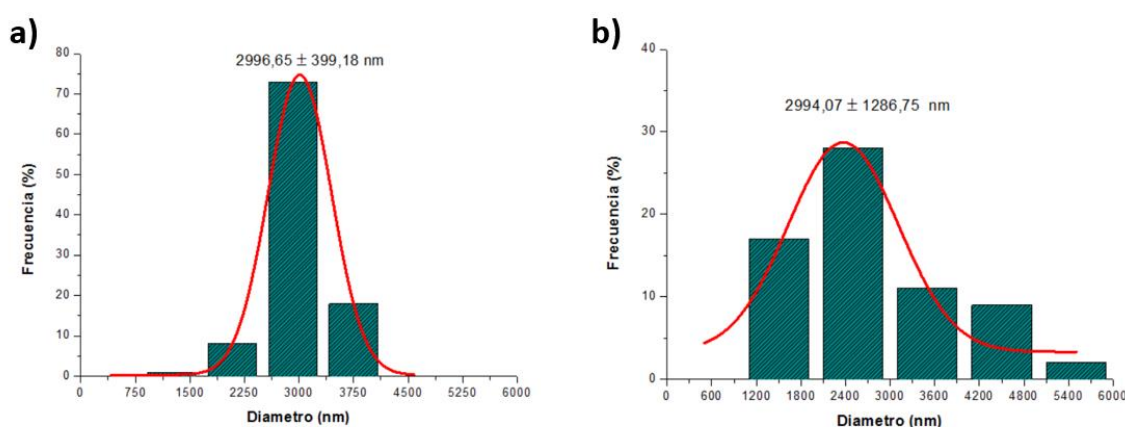


Figura 28. Distribución de los diámetros de las fibras de PLA en HFIP y Cloroformo bajo las condiciones óptimas. a) Muestra 15 ([Tabla 6](#)), b) Muestra 15 ([Tabla 7](#)).

La espectroscopia por transformada de Fourier se utilizó para analizar la estructura del PLA y de las fibras uniaxiales electrohiladas en dos disolventes diferentes, PLA en HFIP y en Cloroformo, como se muestra en la [Figura 29](#). El espectro del PLA contiene bandas de absorción características entre 1780 y 1680 cm^{-1} para la vibración de tensión del grupo funcional C=O y entre 1200 y 1100 cm^{-1} para la vibración de tensión del grupo C-O-C. Los picos a 1749 y a 1181 cm^{-1} , pertenecen a los grupos funcionales mencionados. Los picos a 1453 y 1359 cm^{-1} , asignados a vibraciones de flexión, pertenecen a los grupos $-\text{CH}_3$ y $-\text{CH}-$. Finalmente los picos a 1085 y a 861 cm^{-1} , hacen presencia en el espectro debido a los grupos C-O y C-H.

Los espectros a y c) de la [Figura 29](#), correspondientes a los espectros del PLA y de las fibras de PLA en cloroformo, son prácticamente idénticos y no se aprecian bandas nuevas características. En el caso del espectro b), que pertenece a las fibras uniaxiales de PLA en HFIP, aparece una nueva banda ancha que va de los 3000 a los 2850 cm^{-1} . El pico a 2973 cm^{-1} , hace referencia al grupo C-H, que no aparece en los espectros a y c), pero que es característico del PLA. En cuanto al pico a 2365 cm^{-1} , pertenece al dióxido de carbono.

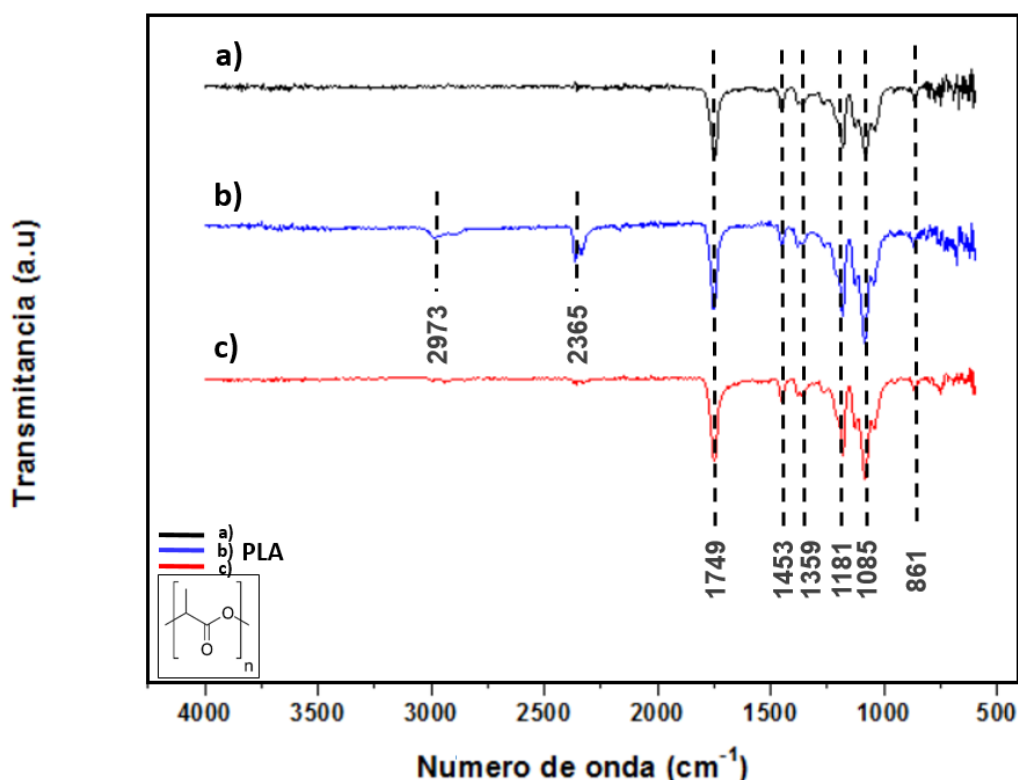


Figura 29. Espectro IR del PLA amorfo (a), PLA en HFIP 9% w/w (b), PLA en Cloroformo 7% w/w (c).

8. Fibras de ácido poliláctico (PLA) con la incorporación de la enzima Lipasa

8.1. Metodología

Para la incorporación de la enzima (Lipasa extraída de páncreas porcino), se han utilizado las condiciones del *electrospinning* óptimas obtenidas del PLA en HFIP y en cloroformo, las cuales coincidían y eran a una distancia de 22,5 cm, a un flujo de 5 mL/h y a un voltaje de 25 kV.

Primero se prepararon las disoluciones como se ha explicado en el [apartado 7.1](#). Seguidamente, a cada una de las disoluciones se le añadió un 10% (w/w) de concentración de la enzima respecto a la concentración del polímero, se le aplicó vórtex durante unos minutos y la disolución ya estaba lista para ser electrohilada.

Para el estudio del proceso de degradación, las muestras se cortaron en finas películas regulares de papel de aluminio de 1x1 cm².

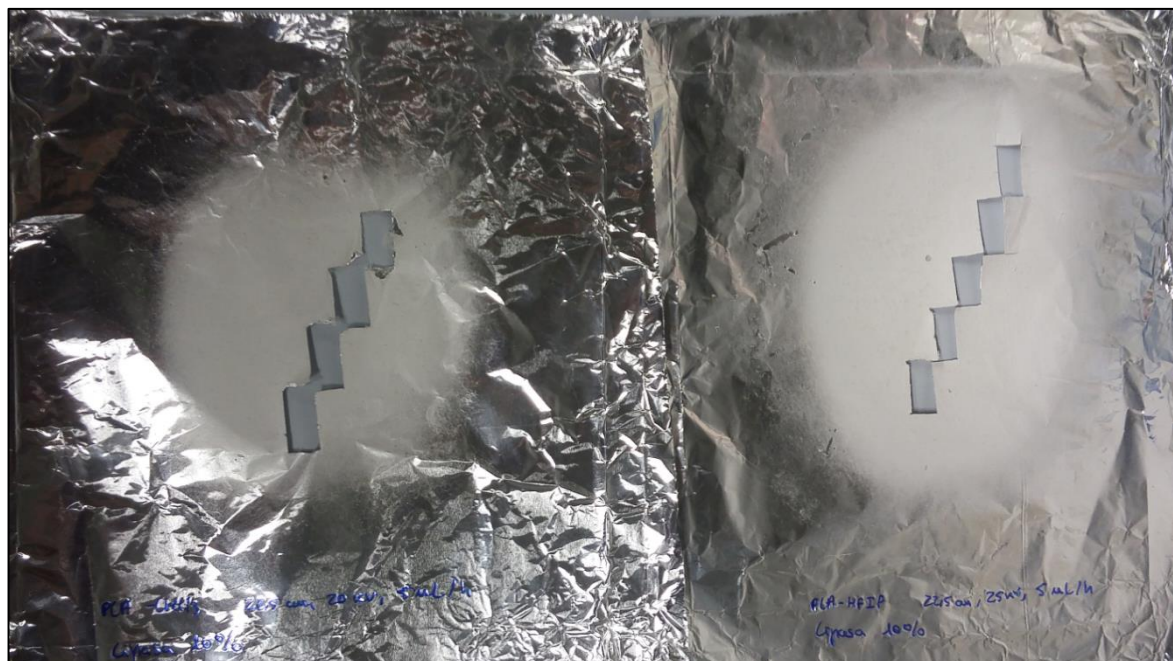


Figura 30. Muestras de las películas cortadas en papel de aluminio 1x1 cm².

Todas las muestras fueron preparadas por duplicado y se pesaron inicialmente antes de colocarlas en 2 mL de medio específico. Este medio enzimático consistía en un tampón fosfato Sorenson a pH 7,4. Las bandejas se pusieron en un agitador a una temperatura de 37 °C. Todas las muestras se renovaron

48 horas después para evitar la pérdida de actividad enzimática. Después de la inmersión, se limpiaron las muestras con agua y se dejaron en el secador de vacío para posteriormente calcular la retención de peso.

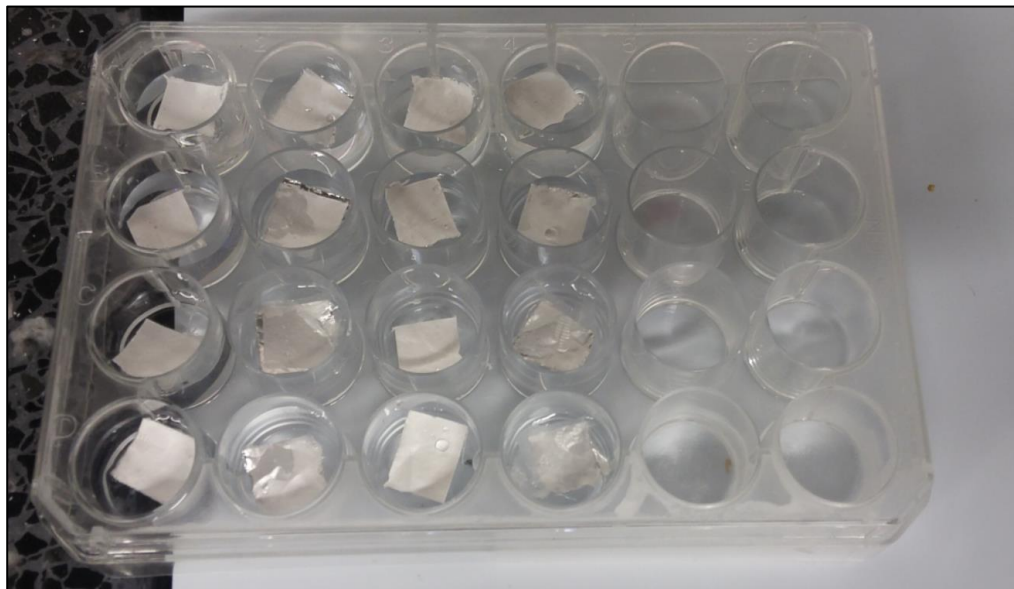


Figura 31. Bandeja con las muestras preparadas para ponerse al agitador a 37 °C.

8.2. Análisis y discusión de resultados

Para encontrar los parámetros idóneos para el *electrospinning* del PLA incorporándole la Lipasa, se ha partido de los resultados óptimos obtenidos de la tabla 6 y 7. Los resultados de los ensayos se pueden ver en las tablas 8 y 9 que se muestran a continuación:

Tabla 8. Ensayo de *electrospinning* realizado con PLA en HFIP añadiendo Lipasa.

Muestra	Disolvente	Polímero % (w/w)	Enzima % (w/w)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	HFIP	9	10	22,5	5	25	Buenas fibras

En el caso de las condiciones operacionales óptimas para el electrohilado de las fibras de ácido poliláctico en HFIP añadiéndole Lipasa, no hizo falta hacer un barrido de condiciones ya que el resultado óptimo operacional sin enzima coincidió con la condición óptima añadiéndole la Lipasa, ya que las fibras acumuladas eran sin gotas y el cono de Taylor se mostró estable durante el *electrospinning*.

Al contrario que con el HFIP, utilizando como disolvente el Cloroformo, sí que hizo falta hacer un barrido de condiciones operacionales, pues la condición de partida que se utilizó sin la enzima no servía en este caso ya que caían algunas gotas sobre las fibras y este defecto modificaba su morfología. La condición óptima fue a 22,5 cm, 20 kV y a un flujo de 5 mL/h.

Tabla 9. Ensayos de electrospinning realizado con PLA en Cloroformo añadiendo Lipasa.

Muestra	Disolvente	Polímero % (w/w)	Enzima % (w/w)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	Cloroformo	7	10	22,5	2,5	15	Fibras con beads
2		7	10	22,5	2,5	20	Fibras con beads
3		7	10	22,5	2,5	25	Fibras con beads
4		7	10	22,5	5	15	Buenas fibras
5		7	10	22,5	5	20	Buenas fibras
6		7	10	22,5	5	25	Fibras con algunas gotas

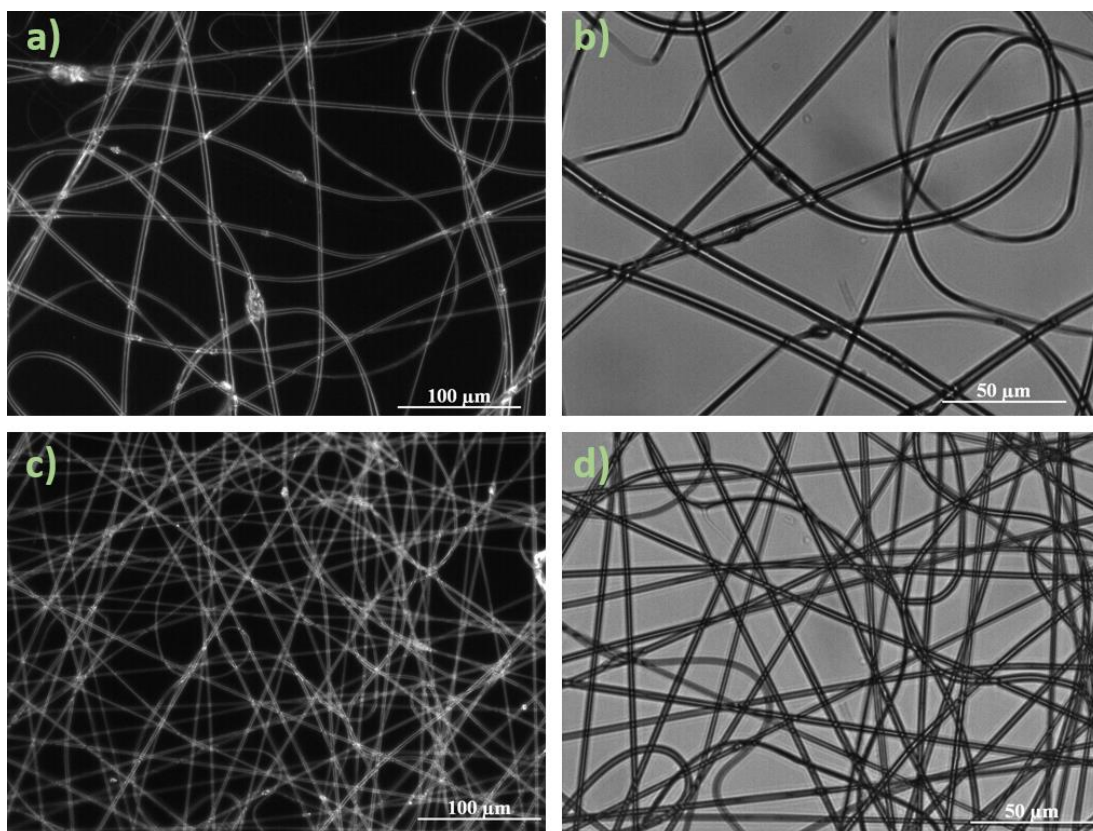


Figura 32. Imágenes de M.O de PLA en HFIP y Cloroformo añadiendo Lipasa. a) Muestra 1 (20x) [Tabla 8](#), b) Muestra 1 (40x) [Tabla 8](#), c) Muestra 5 (20x) [Tabla 9](#), c) Muestra 5 (40x) [Tabla 9](#).

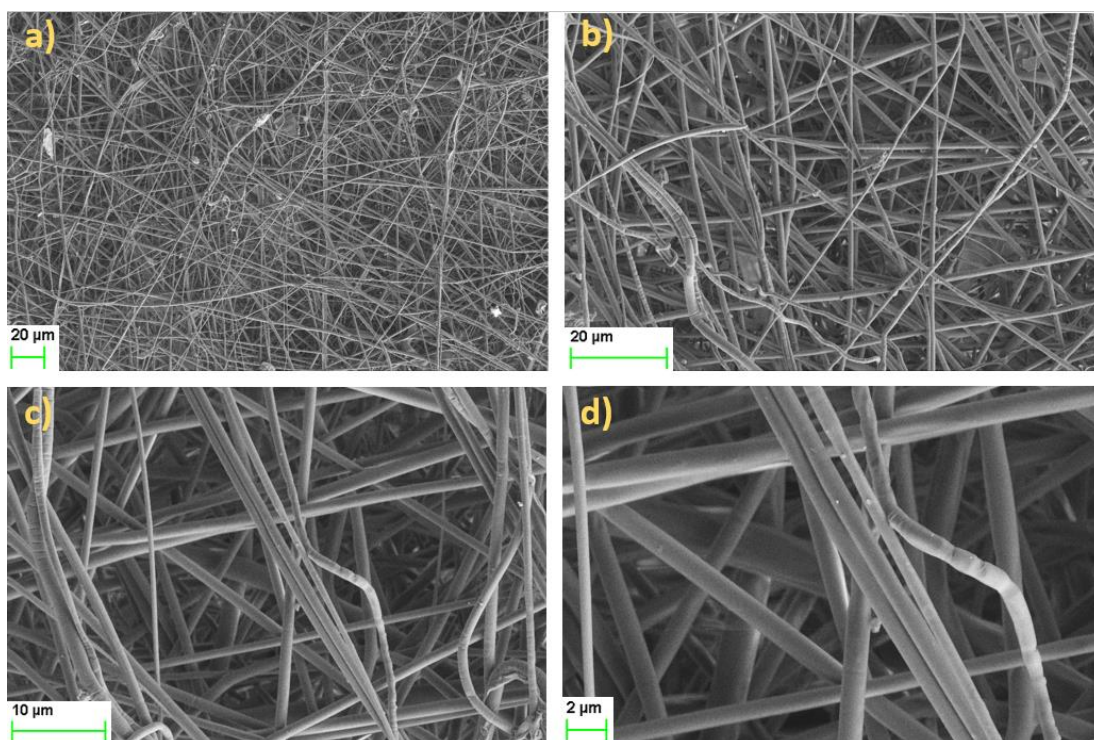


Figura 33. Morfología de las fibras de PLA en HFIP añadiendo Lipasa. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1500 aumentos, c) Vista a 3000 aumentos, d) Vista a 6000 aumentos.

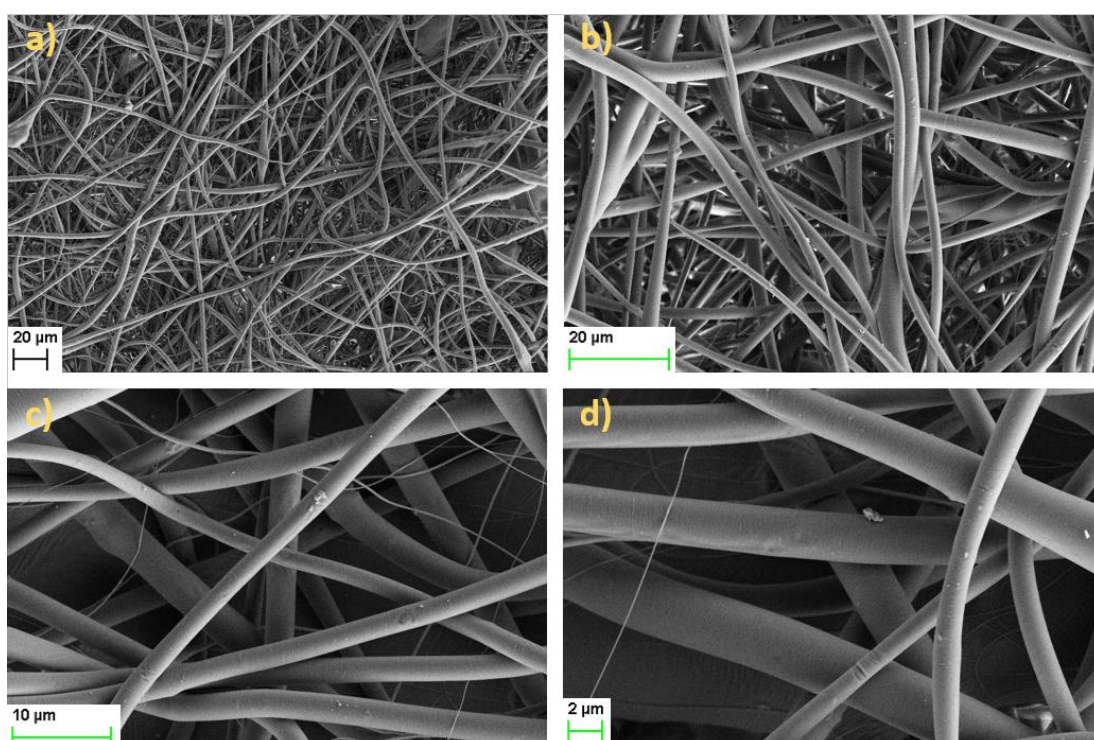


Figura 34. Morfología de las fibras de PLA en Cloroformo añadiendo Lipasa. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1500 aumentos, c) Vista a 3000 aumentos, d) Vista a 5000 aumentos.

En la [Figura 32](#) se muestran las imágenes de la microscopía óptica realizada para las condiciones óptimas del PLA añadiéndole Lipasa. Algunas de las imágenes de las condiciones utilizadas hasta llegar a la mejor condición del PLA en Cloroformo con la adición de la enzima se muestran en el [Anexo I](#).

Las Figuras [33](#) y [34](#) muestran las micrografías del SEM tomadas del electrohilado de las fibras de PLA antes de la exposición de las muestras al estudio de degradación. Tanto en el caso del PLA en HFIP como utilizando Cloroformo como disolvente, las imágenes a bajos aumentos muestran como las fibras son compactas y que su diámetro es regular. También es observable que aparecen algunos defectos presentes en la red de fibras. Estos defectos pueden ser debidos a que algunas partículas de la enzima no hayan quedado bien disueltas o que no hayan sido asimiladas por parte de las fibras en su totalidad. Como ocurría en las micrografías del SEM para el *electrospinning* de las fibras de PLA sin enzima, a altos aumentos, en las fibras de PLA en HFIP con Lipasa aparecen rugosidades y estrías transversales, mientras que en el caso del PLA en Cloroformo con la enzima la textura es lisa y no aparece casi ninguna grieta.

Posteriormente se estudió la degradación del ácido poliláctico mediante el cálculo de su pérdida de masa. El cálculo se ha realizado mediante la [ecuación 1](#):

$$\text{Pérdida de masa (\%)} = \frac{m_i - m_s}{m_i} \times 100 \quad (1)$$

Dónde m_i corresponde a la masa inicial y m_s es la masa seca de las especies después de la degradación.

Como se observa en la [Tabla 10](#), las cuatro primeras columnas corresponden al peso de las matrices antes de iniciarse el proceso de degradación con ambos disolventes por duplicado. Las cuatro columnas siguientes corresponden con el peso seco de las matrices degradándose el PLA después de 72 y de 168 horas de exposición. Finalmente, las columnas restantes corresponden al grado de degradación de las matrices analizadas de PLA añadiéndole Lipasa tanto con HFIP como con Cloroformo.

Tabla 10. Degradación del PLA en HFIP/Cloroformo añadiéndole Lipasa.

	Peso de las matrices inicial (g)				Peso seco a los 3 días (g)		Peso seco a los 7 días (g)		Grado de degradación (%)			
	HFIP	CHCL ₃	HFIP	CHCL ₃	HFIP	CHCL ₃	HFIP	CHCL ₃	HFIP	CHCL ₃	HFIP	CHCL ₃
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A	0,0043	0,0023	0,0052	-	0,0038	0,0013	0,0017		11,63%	43,48%	67,31%	-
B	0,0049	0,002	0,0053	0,0024	0,0016	0,0017	0,0012	0,0011	67,35%	15,00%	77,36%	54,17%
C	0,0041	0,0018	0,0045	0,0018	0,0008	0,0018	0,0007	0,001	80,49%	0,00%	84,44%	44,44%
D	0,0046	0,0014	0,0039	0,0019	0,0004	0,0009	0,001	0,0012	91,30%	35,71%	74,36%	36,84%

Como el estudio de degradación del PLA añadiéndole la Lipasa solo se ha estudiado durante 7 días de exposición, no se ha podido realizar un gráfico tiempo-pérdida de masa, el cual tendría como variable dependiente la pérdida de masa. Por esta razón, se ha graficado en columnas la media del grado de degradación de las muestras de PLA en HFIP y en Cloroformo tras 3 y 7 días, como aparece a continuación en la Figura 35 y 36.

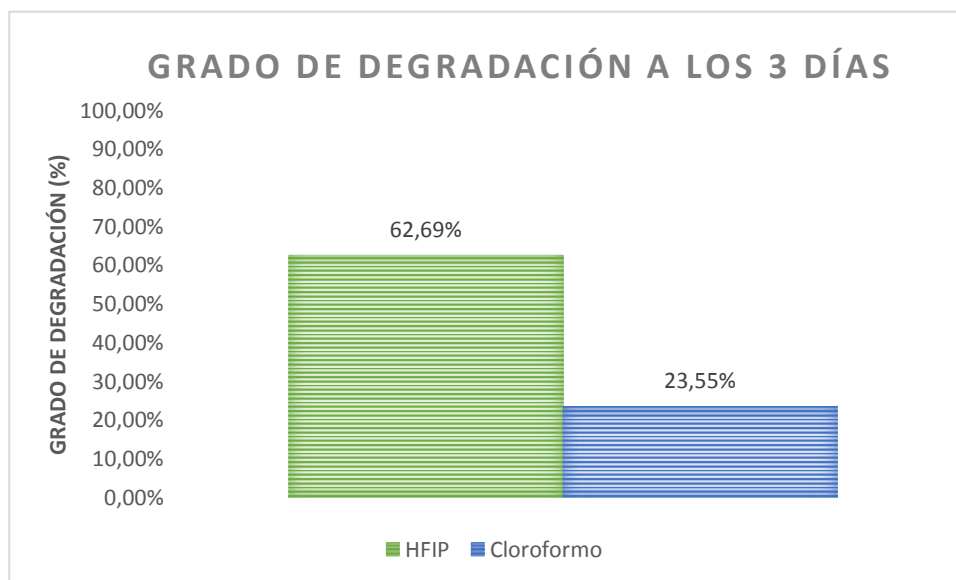


Figura 35. Grado de degradación del PLA en HFIP y Cloroformo añadiendo Lipasa a los 3 días.

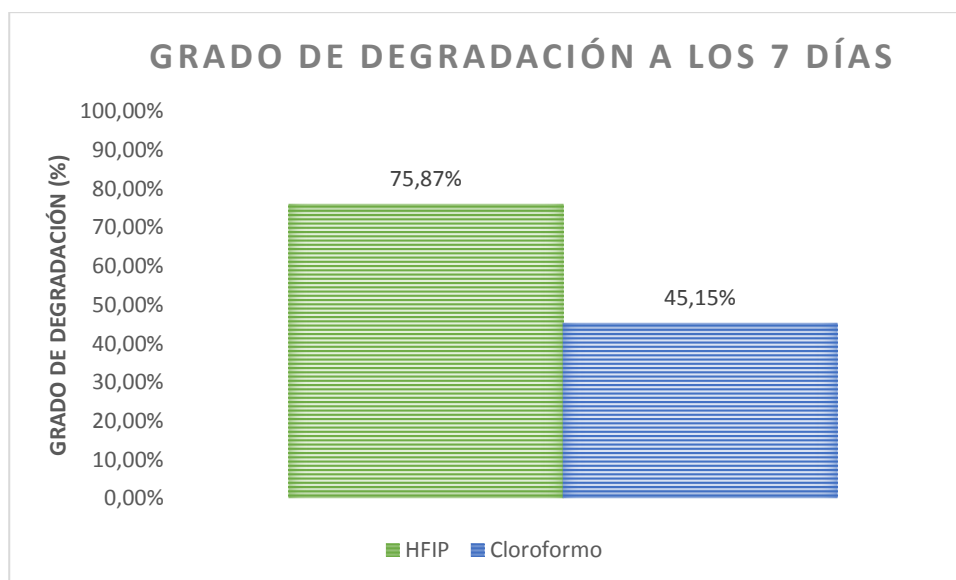


Figura 36. Grado de degradación del PLA en HFIP y Cloroformo añadiendo Lipasa a los 7 días.

La pérdida de masa es aproximadamente del 63% en el caso del PLA en HFIP añadiéndole Lipasa y del 24% en el caso del PLA en Cloroformo añadiéndole la misma enzima después de 72 horas de exposición.

Mientras que durante los tres primeros días de exposición la degradación progresó muy rápido, después de 7 días se detectó una menor tasa de degradación (la pérdida de peso fue cerca del 76% en el caso del PLA en HFIP y aproximadamente del 46% en el caso del PLA en Cloroformo) (Figura 36).

A continuación se muestran las micrografías de los *scaffolds* realizadas con el SEM a altos aumentos en la Figura 37 c) y d) y Figura 38 c) y d) durante el ataque enzimático después de 3 días de degradación. En ellas se revelan algunas diferencias en la textura de las fibras degradadas comparando los dos disolventes utilizados. En el caso de las fibras de PLA en Cloroformo expuestas a la Lipasa, éstas parecen retener más productos de degradación, característica que tiene sentido con la Figura 35, pues en esta se observaba menor pérdida de peso utilizando como disolvente el Cloroformo que con HFIP. Pese que antes de la degradación las fibras eran lisas (Figura 33 y 34), la morfología de las fibras cambia y en ambos casos se vuelve gruesa y se observa la desintegración de las fibras, reflejándose esto con mayor claridad en las fibras de HFIP expuestas a la Lipasa.

También se estudió la morfología de las fibras mediante el microscopio electrónico de barrido después de 168 horas de exposición de los *scaffolds*. En las imágenes a bajos aumentos Fig 39 a) y Fig 40 a) se puede observar como en la red de fibras aparecen imperfecciones, posiblemente causadas por partículas de la enzima que no hayan quedado bien disueltas. En las micrografías del SEM a altos aumentos Fig 39 c, d) y Fig 40 c, d), se puede ver como la actividad enzimática no disminuyó, ya que el proceso de degradación continuó desintegrando aún más las fibras. Este hecho se ve más acentuado comparando las fibras de ácido poliláctico en Cloroformo de los tres a los siete días de exposición a la Lipasa, ya que en este caso el grado de degradación aumentó un 22%, mientras en el caso del hexafluoro-2-propanol (HFIP) la pérdida de masa solo fue del 13% tras 4 días más de exposición. La morfología de las fibras presenta abundantes roturas y grietas en la superficie de las fibras, lo que sugiere que la actividad enzimática no sufrió una desaceleración en el comportamiento tras las 72 horas iniciales de exposición a la enzima.

Tras los resultados obtenidos, pese a obtener una mayor degradación utilizando como disolvente el HFIP, se ha decidido utilizar como disolvente durante el resto del TFG el Cloroformo. Pese a que esta decisión parezca contradictoria si tenemos en cuenta únicamente los resultados, un factor importante para que se lleve a cabo este proyecto es el mayor ahorro posible de costes materiales. El precio unitario del Cloroformo es de aproximadamente 70 €/L, mientras que el del HFIP asciende a los 500 €/L y si tenemos en cuenta que la obtención de fibras coaxiales siempre es compleja pudiéndose gastar mucho disolvente hasta encontrarlas, la decisión tomada es la más sostenible.

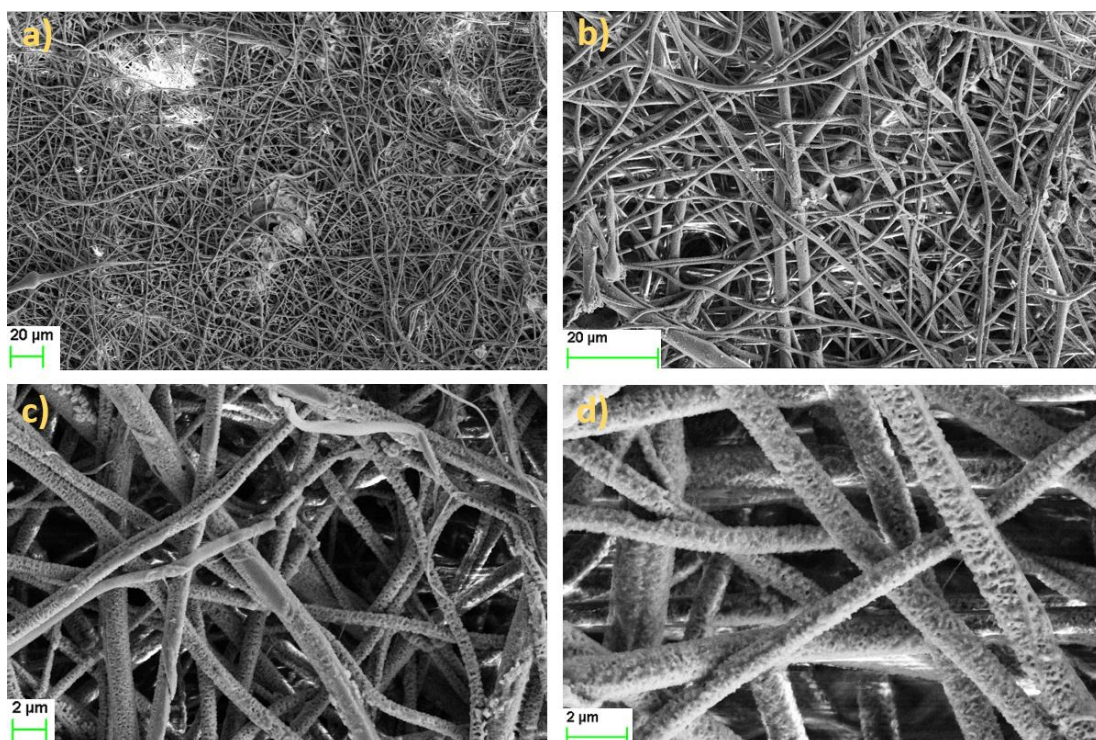


Figura 37. Morfología de las fibras de PLA en HFIP añadiendo Lipasa a los 3 días. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1500 aumentos, c) Vista a 5000 aumentos, d) Vista a 10000 aumentos.

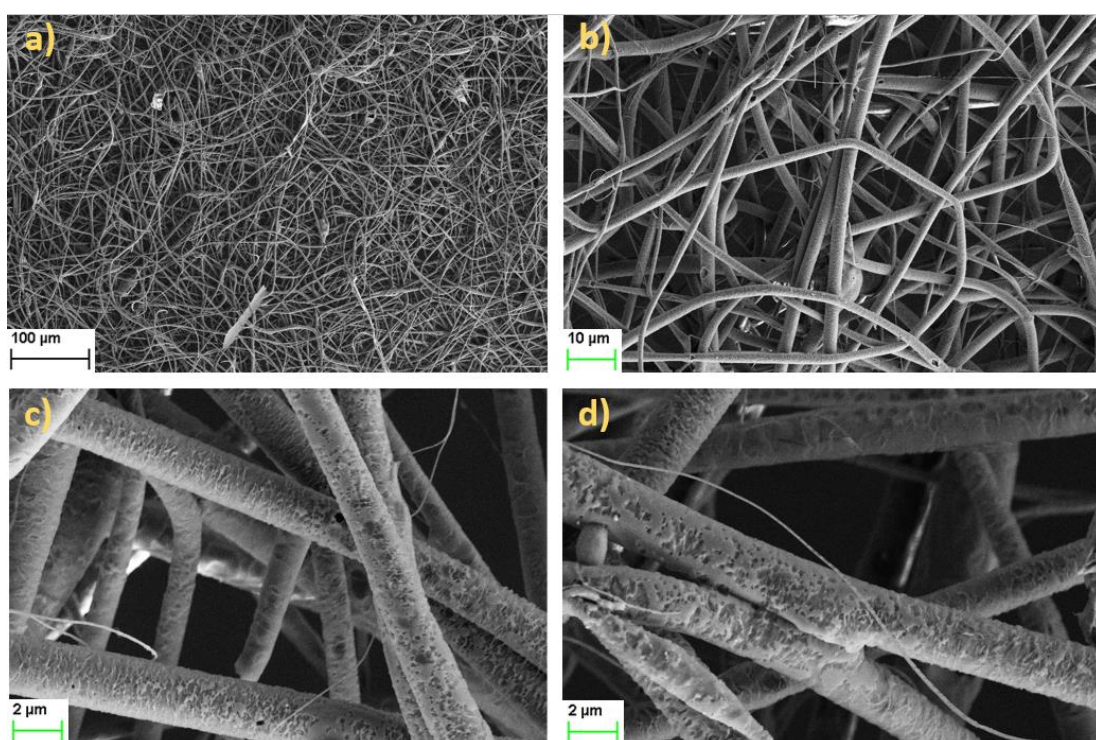


Figura 38. Morfología de las fibras de PLA en Cloroformo añadiendo Lipasa a los 3 días. a) Vista a 250 aumentos, b) Vista a 1500 aumentos, c) Vista a 7600 aumentos, d) Vista a 8400 aumentos.

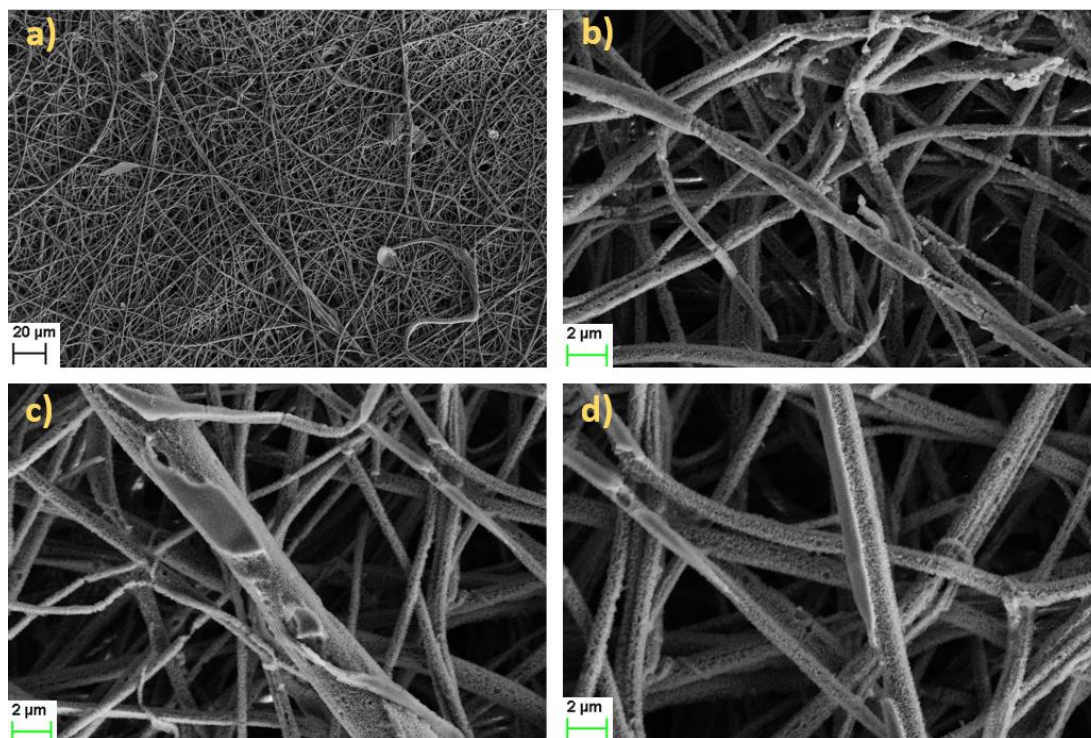


Figura 39. Morfología de las fibras de PLA en HFIP añadiendo Lipasa a los 7 días. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 6000 aumentos, c) Vista a 6500 aumentos, d) Vista a 9000 aumentos.

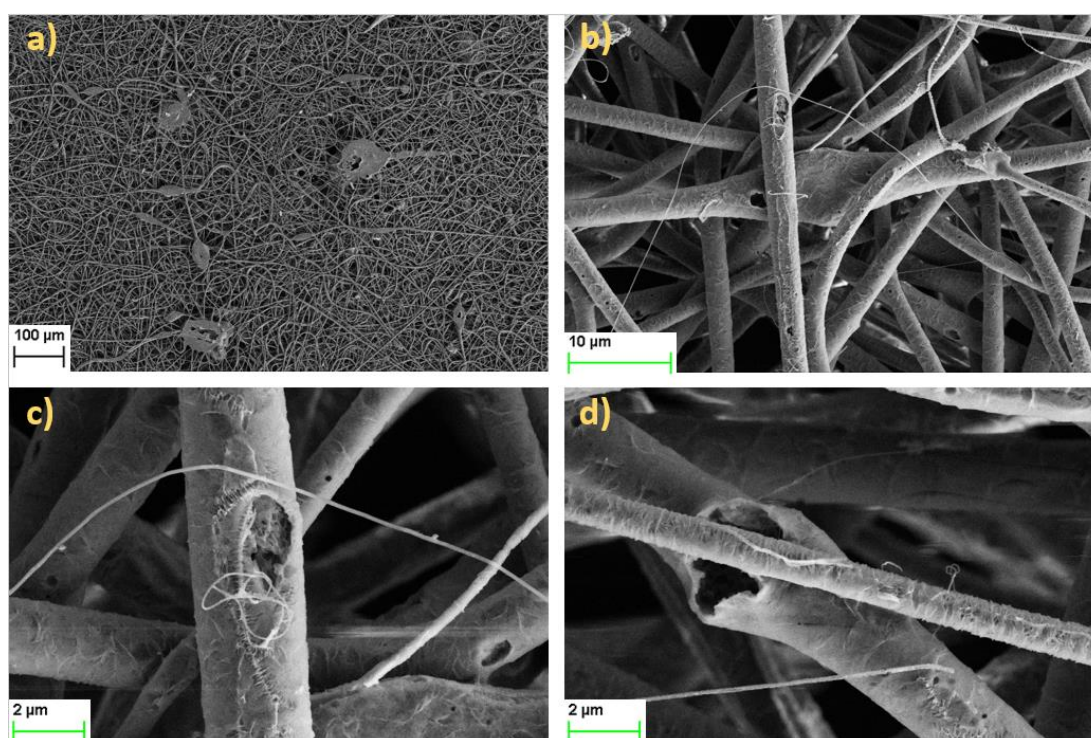


Figura 40. Morfología de las fibras de PLA en Cloroformo añadiendo Lipasa a los 7 días. a) Vista a 150 aumentos, b) Vista a 3100 aumentos, c) Vista a 10800 aumentos, d) Vista a 10800 aumentos.

Los espectros FTIR de las fibras electrohiladas del PLA añadiéndole la Lipasa se estudiaron como se muestra en la [Figura 41](#). Los espectros a, b y c) ya se estudiaron en el [apartado 7.2](#). El espectro d) corresponde a las fibras de PLA en HFIP añadiéndole la Lipasa y el espectro e) corresponde a las fibras electrohiladas de PLA en Cloroformo añadiéndole la enzima.

Los dos nuevos espectros estudiados muestran prácticamente los mismos picos característicos que aparecieron en el espectro del *scaffold* del PLA en HFIP al 9% w/w. En estos aparecen los picos a 861 y a 1085 cm^{-1} , correspondientes a los grupos C-H y C-O. Los picos a 1181, 1359, 1453 y a 1749 se asignan a los grupos funcionales C-O-C, C-H, CH_3 y C-O.

Tal y como ocurriría con el espectro del PLA en HFIP, en los espectros d y e) aparecen dos nuevas bandas características, una banda ancha entre los 3000 y 2850 cm^{-1} y un pico pronunciado a 2365 cm^{-1} . El primer pico encontrado a 2973 cm^{-1} pertenece al grupo C-H, mientras que el segundo corresponde al CO_2 .

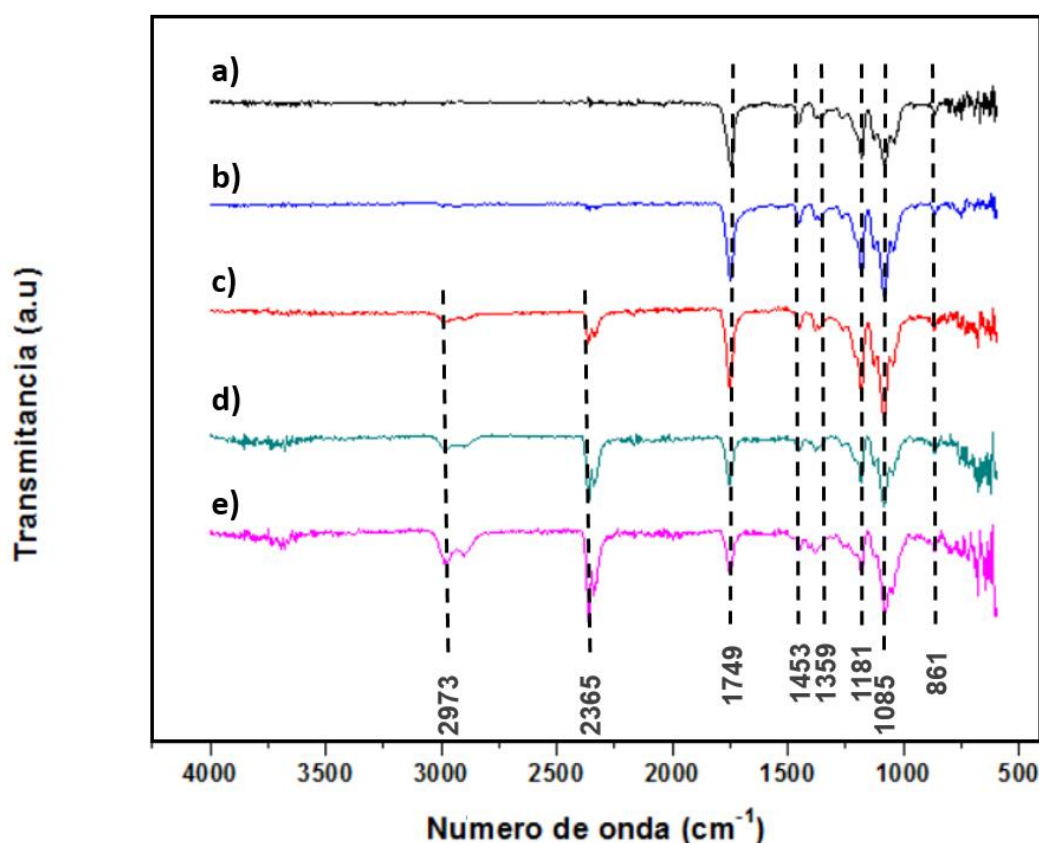


Figura 41. Espectro IR del PLA amorfo (a), PLA en cloroformo 7% w/w (b), PLA en HFIP 9% w/w (c), PLA en HFIP + Lipasa (d), PLA en Cloroformo + Lipasa (e).

9. Intento de Fibras coaxiales PEGc-PLAs

9.1. Metodología

Para la obtención de las micro/nanofibras coaxiales de PLA-PEG sin observar defectos en ellas, se han evaluado diferentes parámetros operacionales como la concentración de los polímeros, el disolvente utilizado en el *core* (PEG) o el uso de una o dos bombas de desplazamiento para poder controlar la velocidad del flujo de los polímeros.

Se ha partido de los mejores parámetros operacionales uniaxiales para poder obtener las fibras coaxiales: 22,5 cm, 25 kV y 5 mL/h. Las concentraciones de partida utilizadas han sido PEG en Agua al 50% w/w y PLA en CHCl₃ al 7% w/w.

La metodología seguida para la preparación de las disoluciones ha sido la que se ha detallado en los apartados 6.1 y 7.1.

9.2. Análisis y discusión de resultados

En la [Tabla 11](#), se muestran todos los ensayos realizados del *electrospinning* coaxial con una bomba de desplazamiento. Como se puede observar, primeramente se utilizó en el electrohilado las agujas 21G para el (*core*) y 18G para el *shell*. A medida que se procesaban y se analizaban los resultados, se decidió cambiar la aguja utilizada en la cubierta por la 14G. Este cambio es debido a que en los primeros ensayos con una concentración del núcleo del 50 y 40% w/w, la mayoría de fibras que se obtenían eran de polietilenglicol con algún intento de fibra coaxial. Al no observarse fibras de ácido poliláctico en las matrices obtenidas, un posible motivo fue la poca distancia entre el diámetro de la aguja exterior del núcleo (0,8192 mm) y el diámetro de la aguja interior de la cubierta (0,838 mm), que posiblemente imposibilitaba el avance del PLA por su viscosidad. Al cambiar la aguja por la 14G, la distancia entre las agujas era mayor, ya que el diámetro interior de esta es de 1,6 mm.

Pese a este cambio, las fibras no salieron mejor ya que en diferentes condiciones del barrido operacional aparecían fibras verticales en el colector que no permitían ser recogidas y analizadas. Este fenómeno puede ser debido a la baja conductividad del PEG. Para contrarrestar este suceso, se decidió añadir un 0,09% w/w de cloruro de sodio a la disolución de PEG del 40% w/w. La adición del NaCl incrementa la conductividad de la disolución del PEG y mejora el transporte del chorro del polímero, comportando una considerable reducción en el diámetro de las fibras.

Tabla 11. Ensayos de electrospinning coaxial PEGc-PLAs con una bomba de desplazamiento.

Fibra	Polímero	Aguja	Distancia	Flujo	Voltaje	Morfología
	% (w/w)		(cm)	(mL/h)	(kV)	
PEGc/PLAs	50/7	21G/18G	22,5	1	25	Fibras de PEG con intento de fibras coaxiales
			22,5	2,5	25	Fibras de PEG con intento de fibras coaxiales
			22,5	5	25	Fibras de PEG con intento de fibras coaxiales
			22,5	5	27	Fibras de PEG con intento de fibras coaxiales
			22,5	10	25	Fibras de PEG con gotas
	40/7	21G/18G	22,5	1	25	Gotas
			22,5	2,5	25	Gotas
			22,5	5	25	Gotas
			22,5	10	25	Gotas con algún intento de fibra coaxial
	40 + 0,09% NaCL/7	21G/18G	22,5	2,5	25	Gotas
			22,5	5	25	Gotas
			22,5	10	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
	40/5	21G/14G	22,5	2,5	25	Gotas con algunas fibras de PEG
			22,5	2,5	27	Gotas con algunas fibras de PEG
			22,5	5	20	Gotas con algunas fibras de PEG
	30/7	21G/14G	22,5	2,5	25	Gotas
			22,5	5	20	Gotas
			22,5	5	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
			22,5	10	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
	30/5	21G/14G	22,5	2,5	25	Gotas
			22,5	5	25	Gotas
			22,5	7,5	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
			22,5	10	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
			22,5	12,5	25	Gotas
	25/7	21G/14G	22,5	2,5	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
			22,5	5	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
			22,5	10	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
	20/7	21G/14G	22,5	5	25	Gotas
			22,5	10	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
	15/7	21G/14G	22,5	1	25	Gotas
			22,5	2,5	25	Intento de fibras coaxiales con gotas
			22,5	5	25	Gotas
			22,5	10	25	Gotas

Tabla 12. Ensayos de electrospinning coaxial PEGc-PLAs con dos bombas de desplazamiento.

Fibra	Polímero	Aguja	Distancia	Flujo core/ Flujo shell	Voltaje	Morfología
	% (w/w)		(cm)	(mL/h)	(kV)	
PEGc/PLAs	50/7	21G/18G	22,5	2,5/5	25	Fibras de PEG con gotas
			22,5	2,5/10	25	Fibras de PEG con intento de fibras coaxiales
			22,5	1/2,5	25	Fibras de PEG con gotas
			22,5	5/7,5	25	Fibras de PEG con gotas

Después de realizar el barrido operacional con una bomba de desplazamiento y ver que no se obtenía una red de fibras coaxiales para el estudio de su morfología, se decidió realizar el *electrospinning* coaxial con dos bombas de desplazamiento. La relación de flujos entre la cubierta y el núcleo es un parámetro importante en la formación de fibras coaxiales, ya que generalmente el flujo de la disolución de la cubierta ha de ser mayor que el flujo de la disolución del núcleo. El cambio de una a dos bombas de desplazamiento no supuso un cambio en la mejora de los *scaffolds* obtenidos, como se observa en la [Tabla 12](#).

A continuación se presenta en la [Figura 42](#), los defectos observados mediante microscopia óptica a diferentes concentraciones de los polímeros en el intento de fibras coaxiales. En las imágenes se observan tanto gotas obtenidas a diferentes condiciones del barrido, como fibras de PEG con gotas, utilizando tanto una como dos bombas de desplazamiento.

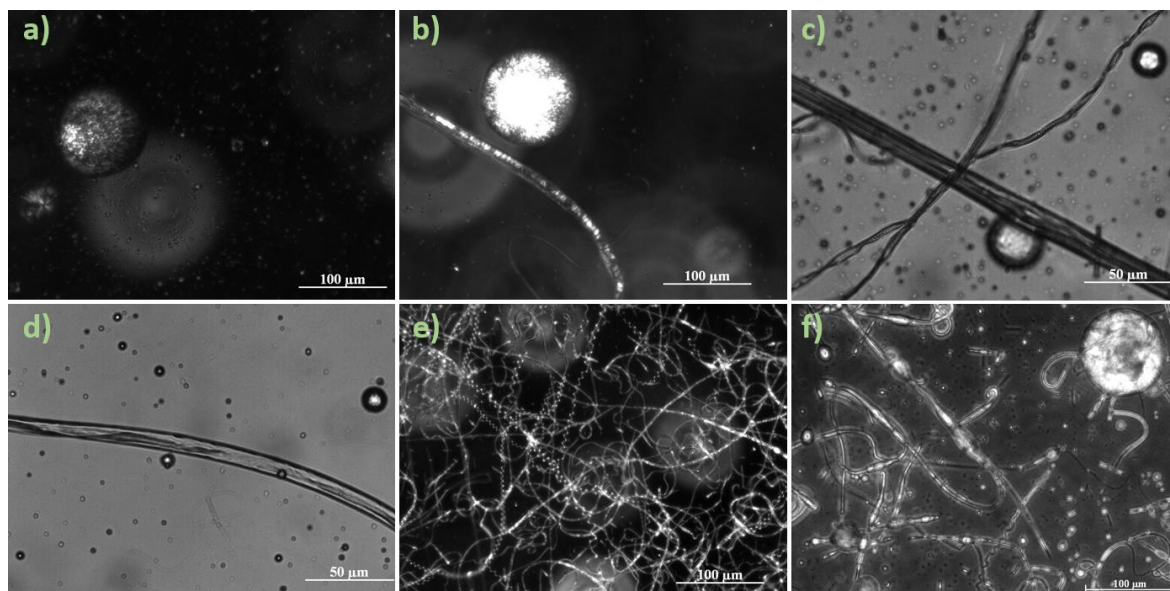


Figura 42. Defectos observados mediante M.O de las fibras coaxiales PEGc-PLAs a diferentes concentraciones de los polímeros.

En la [Figura 43](#) aparece el intento de fibras coaxiales obtenidas a diferentes concentraciones de los polímeros. Las imágenes muestran como los diámetros son mucho mayores que las fibras de PEG que se obtienen junto a ellas. En la micrografía d) se aprecia claramente la formación de una fibra (PEG) dentro de otra (PLA) con gotas alrededor de estas.

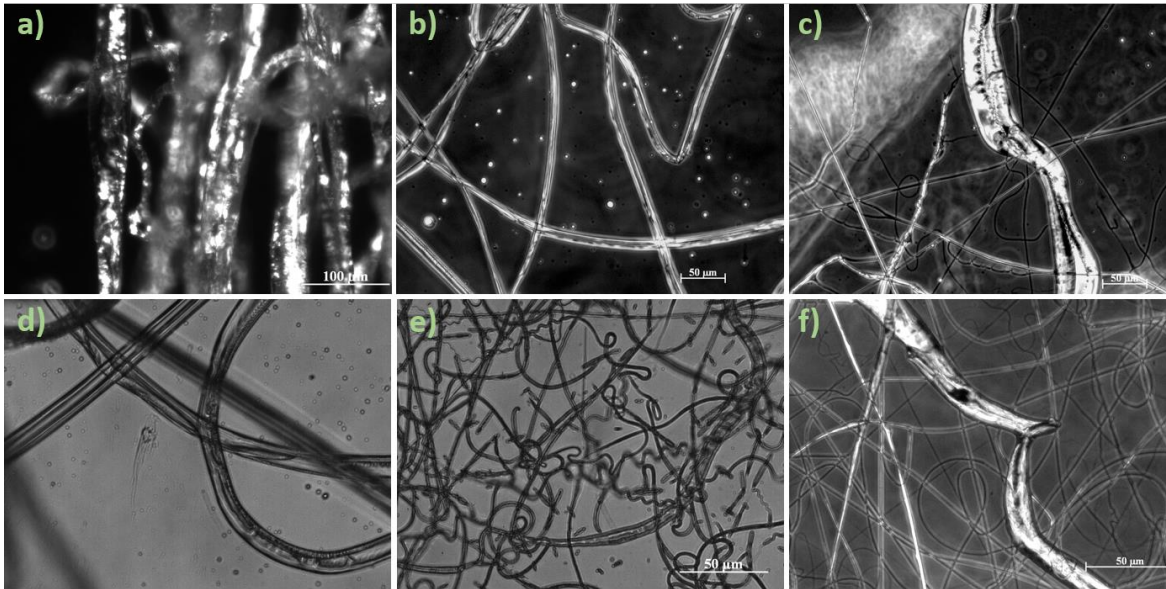


Figura 43. Intento de Fibras coaxiales PEGc-PLAs observados mediante M.O a diferentes concentraciones de los polímeros.

Las matrices obtenidas de las fibras de PEG con intento de fibras coaxiales se pretendían estudiar mediante la pérdida de peso del PEG en la matriz después de la redisolución en agua. Para realizar este estudio, se siguieron los siguientes pasos:

1. Pesar 4 trozos de 2x2 cm² de la matriz inicial.
2. Añadir 4 mL de agua milliQ a cada uno de los trozos de matriz y dejarlos en remojo durante 24 horas en el agitador a 200 rpm y 37 °C.
3. Quitar el agua milliQ y secar los trozos cuadrados en la estufa a 37 °C durante 24 horas.
4. Secar la matriz y pesarla.
5. Comparar la pérdida de masa experimental con la teórica.

Mientras se realizaba el estudio, en el paso 3 aparecieron los cuatro trozos cortados de 2x2 cm² únicamente con el papel de plata, sin la matriz. Esto es debido a que la mayoría de fibras acumuladas eran de polietilenglicol, que es un polímero soluble en agua y después de la inmersión, por lo tanto, se disolvió totalmente en el agua.

De esta manera se vio reflejada la imposibilidad de obtener fibras coaxiales utilizando de disolvente en el núcleo agua, por lo que para la obtención de éstas, se tuvo que cambiar de disolvente.

10. Fibras coaxiales PEGc-PLAs

10.1. Metodología

Para la obtención de fibras coaxiales PEGc-PLAs se tuvo que cambiar de disolvente en el núcleo, ya que como se ha explicado en el [capítulo 9](#), con agua en el *core* no se pudieron obtener *scaffolds* para analizar. El disolvente escogido para el núcleo fue el Cloroformo en un 25% w/w, y la cubierta se modificó al pasar de PLA en Cloroformo a una disolución de PLA en una mezcla Cloroformo/Acetona (2:1 v/v) al 7% w/w. Todos los experimentos en cada uno de los controles se realizaron a temperatura ambiente y únicamente con una bomba de desplazamiento. Las agujas utilizadas fueron la 21G para el núcleo y la 14G para la cubierta. Todas las condiciones en negrita, son consideradas como las idóneas.

10.2. Análisis y discusión de resultados

10.2.1. Matriz 1: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta.

Las condiciones operacionales que se utilizaron para el barrido operacional de la Matriz 1 fueron los encontrados en los mejores parámetros operacionales uniaxiales de los diferentes polímeros. Los ensayos del barrido operacional del electrohilado coaxial se muestran en la [Tabla 13](#). En la tabla también aparece el diámetro de las fibras, el cual aumenta a mayor flujo debido a que el campo eléctrico aplicado es el mismo (25 kV), mientras que la masa de la gota aumenta. Al aplicar la misma tensión en una unidad de masa mayor, el diámetro aumentará al estirar la gota.

Tabla 13. Ensayos de las mejores condiciones del electrospinning coaxial de la Matriz 1.

Muestra	Fibra	Polímero % (w/w)	Aguja	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Diámetro (μ m)	Morfología
1	PEGc/PLAs	25/7	21G/14G	22,5	2,5	25	4,03 \pm 0,68	Fibras coaxiales.
2				22,5	5	25	4,44 \pm 0,63	Fibras coaxiales.

Las imágenes de la [Figura 44](#) muestran las posibles fibras coaxiales, y como estas aparecen de manera regular y sin gotas tanto a 2,5 como a 5 mL/h manteniendo los otros parámetros iguales. Estas fotografías se obtuvieron mediante el microscopio óptico, el cual se utiliza para establecer la morfología global de la fibra pero en ningún caso para determinar si las fibras obtenidas son coaxiales o no.

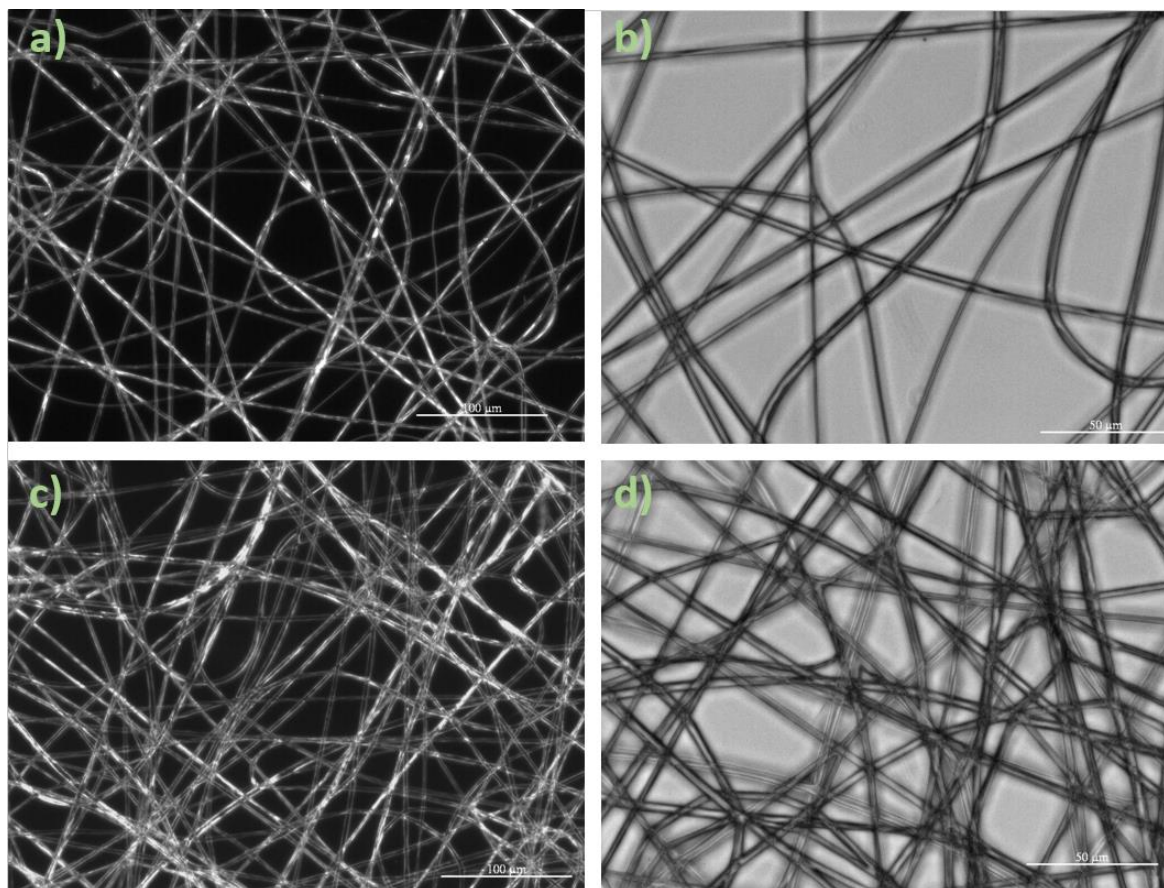


Figura 44. Imágenes de M.O de las fibras coaxiales de la Matriz 1. a) Muestra 1 (20x) [Tabla 13](#), b) Muestra 1 (40x) [Tabla 13](#), c) Muestra 2 (20x) [Tabla 13](#), d) Muestra 2 (40x) [Tabla 13](#).

Posteriormente se estudió la pérdida de masa del PEG, ya que el PLA y el PEG presentan distinta solubilidad en agua, el primero es totalmente insoluble mientras el segundo sí es soluble en agua. La metodología seguida para este estudio ha sido la explicada en el [apartado 9.2](#). El objetivo de este estudio es conocer a qué condiciones hay un mayor porcentaje de PEG removido después de la inmersión. En la [Tabla 14](#) se presentan los diámetros después de la inmersión en agua del polietilenglicol con su correspondiente promedio y desviación estándar.

Tabla 14. Diámetros (media y desviación estándar) de las fibras coaxiales de la Matriz 1 después de remover el PEG.

Muestra	Fibra	Polímero	Distancia	Flujo	Voltaje	\varnothing	$\Delta\varnothing$	PEG removido (%)
		% (w/w)	(cm)	(mL/h)	(kV)	(μm)	(μm)	
1	PEGc/PLAs	25/7	22,5	2,5	25	$4,79 \pm 0,66$	0,76	96
2			22,5	5	25	$3,85 \pm 0,57$	-0,59	96

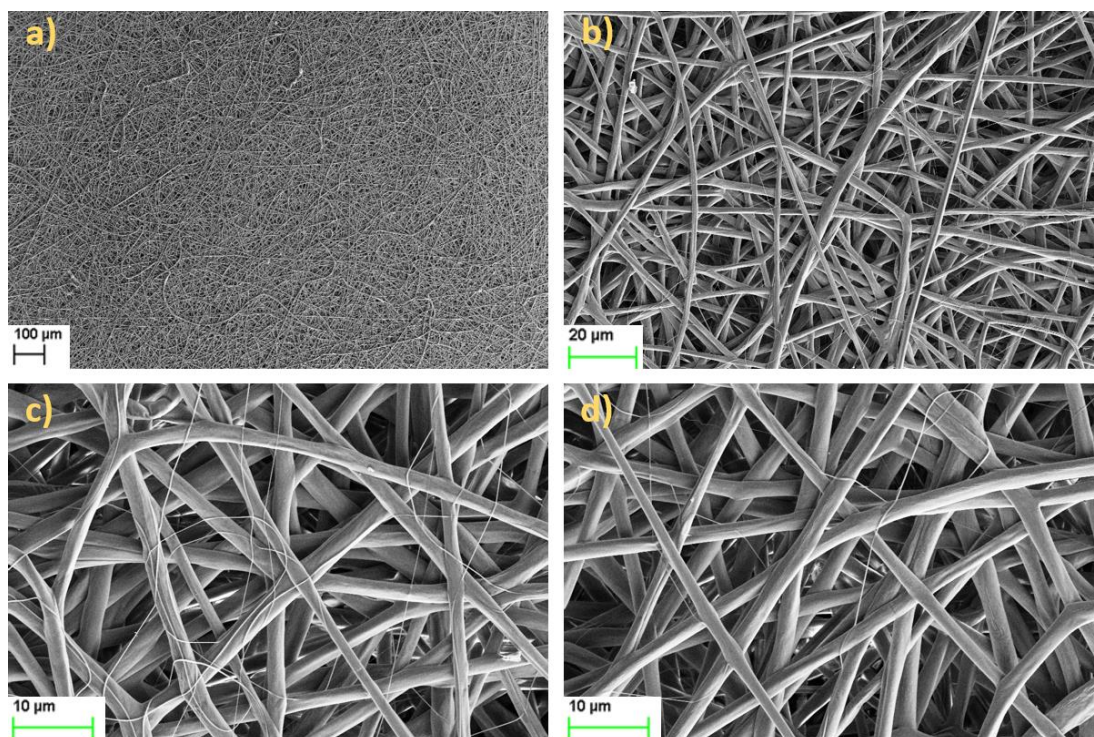


Figura 45. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 1. a) Vista a 100 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

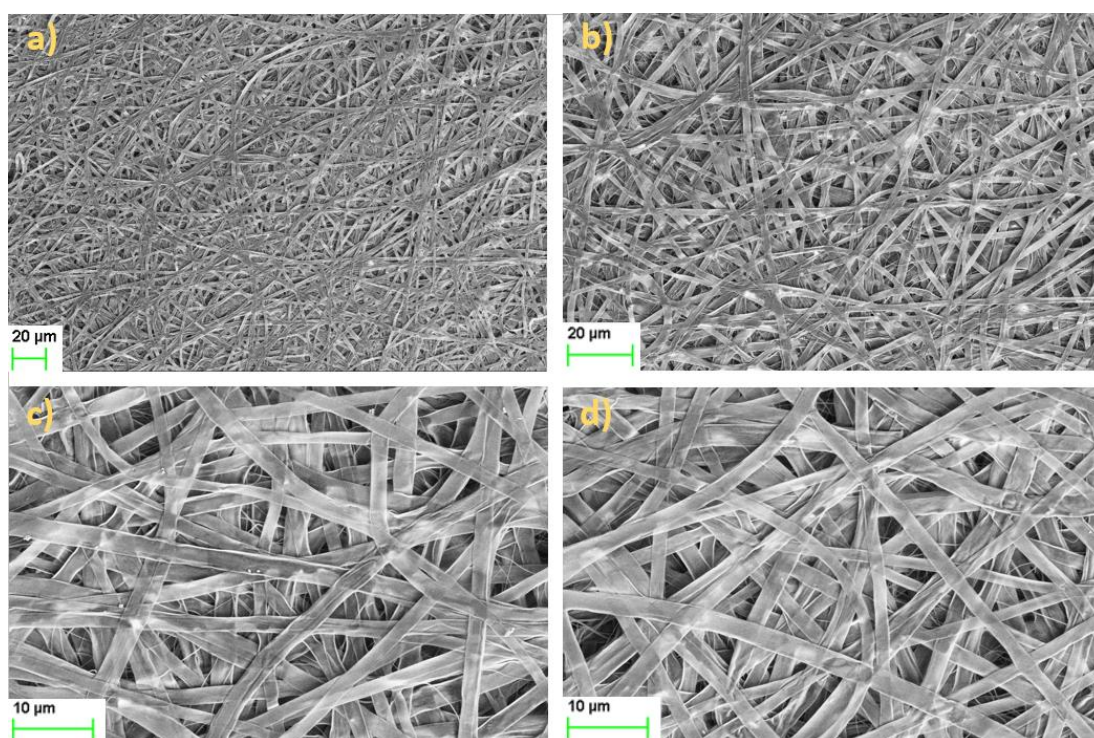


Figura 46. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 1 después de la inmersión en agua. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

En la [Tabla 14](#) se muestra el porcentaje de PEG removido comparándolo con el contenido inicial. Casualmente, para las dos condiciones operacionales electrohiladas el porcentaje ha sido el mismo, de un 96%. Cabe remarcar el incremento del diámetro en los dos casos para los *scaffolds* de fibras coaxiales obtenidos, ya que los diámetros antes de la inmersión varían entre 4,03 y 4,44 μm , mientras que para las fibras electrohiladas uniaxiales el diámetro era de 1,435 μm en el caso del PEG y de 2,994 μm en el caso del PLA.

La morfología de las fibras se analizó mediante SEM antes y después de la inmersión en agua. En la [Figura 45](#), a 1000 y a 2500 aumentos, se puede observar que las fibras presentan un diámetro medio homogéneo y la superficie es rígida, hecho que concuerda con la morfología que presentaban las fibras uniaxiales de PLA en Cloroformo y tiene sentido que así sea, ya que el PLA está en la cubierta de las fibras coaxiales. En la micrografía c y d) de la [Figura 45](#) se pueden distinguir fibras muy finas dispersas entre la red de microfibras coaxiales.

Después de incubar las muestras de fibras en agua, proceso que ha eliminado una importante cantidad de PEG, se han examinado nuevamente las fibras mediante el microscopio electrónico de barrido. La morfología de las microfibras se vio afectada por la solubilización de PEG. En la [Figura 46](#) se observa como la mayoría de las fibras se han vaciado y esto ha provocado que las fibras se aplasten, buen síntoma de que las fibras obtenidas son coaxiales. Además, aparentemente la mayoría de las fibras presentan un diámetro similar, lo cual se verá más adelante cuando se analicen las distribuciones de los diámetros. También se puede ver que en la superficie de las fibras han aparecido rugosidades, pero no se aprecian cambios en la morfología drásticos, como por ejemplo perforaciones en las fibras.

Los histogramas de la [Figura 47](#) muestran el análisis de las distribuciones de los diámetros de las fibras antes y después de la inmersión de las matrices en agua. Para cada una de las matrices analizadas se midieron los diámetros de 100 fibras y los valores se analizaron usando una distribución de frecuencia ajustado a un modelo Gaussiano utilizando el *software Origin*.

Se puede observar que tanto para el histograma a), como el b), pertenecientes a la muestra 1 y 2 de la [Tabla 13](#) de las fibras coaxiales de la Matriz 1 antes de la inmersión, muestran una clara distribución unimodal, característica que indica que las fibras obtenidas fueron electrohiladas bajo condiciones operacionales idóneas. En las fibras obtenidas a un flujo mayor (5 mL/h), cabía esperar que el diámetro de las fibras fuese mayor debido a que el campo eléctrico aplicado era constante, como se ha explicado al principio del apartado. En ambos casos, la desviación estándar era muy pequeña respecto al valor promedio 0,68 μm para el primer caso y 0,63 μm para el segundo, lo que reafirma la gran uniformidad de las fibras coaxiales.

Del mismo modo que se han analizado las distribuciones de las fibras obtenidas antes de la inmersión, se han analizado los diámetros de las fibras a partir de las micrografías obtenidas mediante SEM para analizar si después de la inmersión las fibras seguían siendo homogéneas o si por el contrario, se aprecian grandes cambios después de la solubilización del PEG en el agua. Los histogramas c) y d) de la [Figura 47](#), continúan mostrando distribuciones unimodales en las fibras obtenidas de las matrices después de la inmersión en agua, reflejando la uniformidad de las fibras vistas en la [Figura 46](#). El diámetro promedio en la muestra 1 se incrementó en $0,66\ \mu\text{m}$, mientras que en la muestra 2 después de la inmersión se redujo en $0,59\ \mu\text{m}$. Pese a este ligero aumento y disminución del valor promedio de los diámetros, se puede observar que en ambos casos la desviación estándar de las distribuciones continúa siendo pequeña, lo que sugiere que el cambio que ha provocado la inmersión en agua no ha sido significativo en lo que respecta al diámetro de las fibras.

Finalmente, se concluye que el electrohilado a $5\ \text{mL/h}$ es mejor que a $2,5\ \text{mL/h}$ ya que el porcentaje de PEG removido ha sido el mismo, pero la desviación del valor promedio de los diámetros es menor tanto antes como después de remover el PEG a mayor flujo.

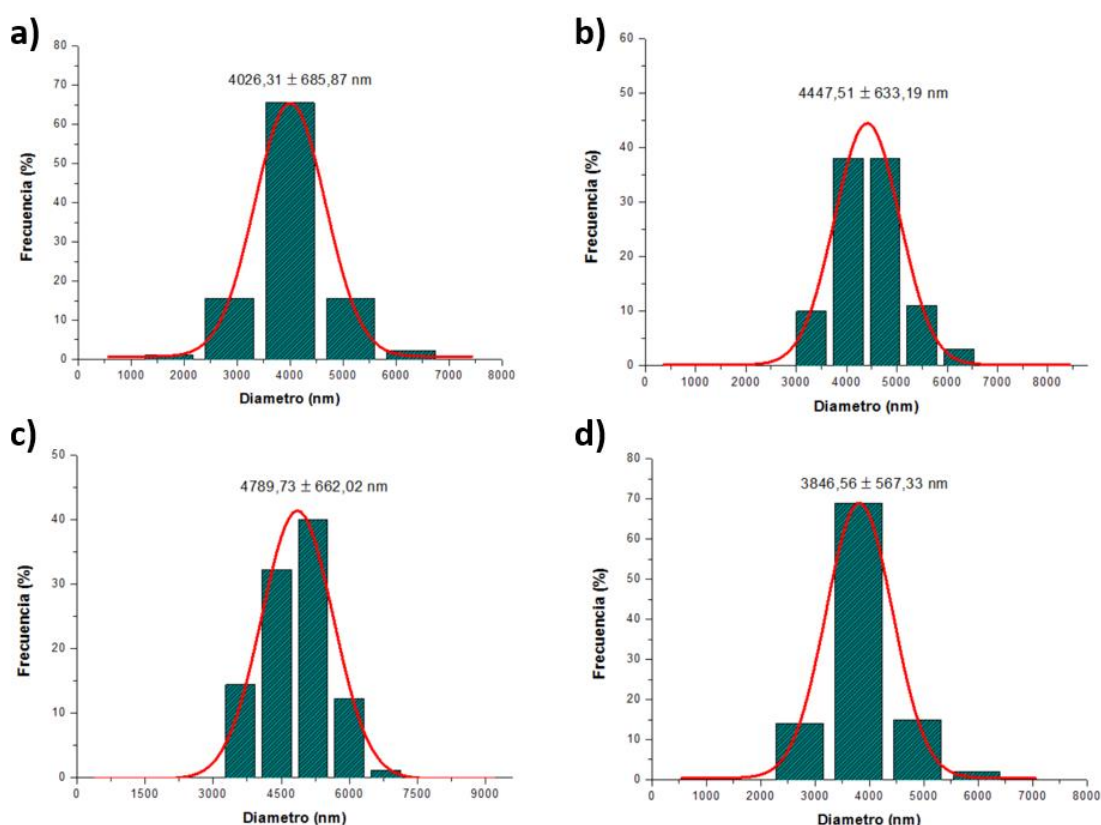


Figura 47. Distribución de los diámetros de las fibras coaxiales de la Matriz 1 antes y después de la inmersión en agua. a) Muestra 1 ([Tabla 13](#)), b) Muestra 2 ([Tabla 13](#)), c) Muestra 1 ([Tabla 14](#)), d) Muestra 2 ([Tabla 14](#)).

10.2.2. Matriz 2: Fibras coaxiales de PEG cargado con fagos en el núcleo y PLA en la cubierta.

Para la realización de esta matriz, se ha generado un *scaffold* constituido por fibras coaxiales de PEG en el núcleo cargado al 25% w/w en una mezcla de Cloroformo/*Phagestaph*TM (1:1 v/v) y de PLA en la cubierta al 7% w/w en una mezcla Cloroformo/Acetona (2:1 v/v). La determinación de los parámetros operacionales en los que se ha trabajado durante este experimento, está basada en los resultados obtenidos en la Matriz 1 (Tabla 13), para confirmar que las condiciones utilizadas también servían para este *scaffold*. En la Tabla 15, se muestra que utilizando las mismas condiciones que en la Matriz 1, también se obtenían fibras coaxiales como se verá mediante SEM la morfología de las fibras antes y después de la inmersión en agua de un trozo de *scaffold*. Contrariamente a la primera matriz, para este nuevo *scaffold* el diámetro de las fibras a 2,5 mL/h es mayor que aumentando el flujo a 5mL/h manteniendo el resto de parámetros constante. Este resultado opuesto al de la primera matriz, puede ser debido a que en la muestra 2, pese a la obtención de fibras coaxiales, había que mantener el cono de Taylor estable realizando una limpieza periódica de la punta de la aguja, ya que de lo contrario se formaban subconos que hacían que el diámetro de las fibras no fuese uniforme.

Tabla 15. Ensayos de las mejores condiciones del electrospinning coaxial de la Matriz 2.

Muestra	Fibra	Polímero % (w/w)	Aguja	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Diámetro (μm)	Morfología
1	PEGc/PLAs	25/7	21G/14G	22,5	2,5	25	5,20 ± 0,72	Fibras coaxiales.
2				22,5	5	25	4,72 ± 0,90	Fibras coaxiales.

Las micrografías obtenidas mediante M.O (Figura 48), corresponden a las fibras coaxiales obtenidas de la Tabla 15 tanto a medio aumento (20x) como a alto aumento (40x). Para las dos condiciones, se observa como las fibras electrohiladas no presentan *beads* y que aparentemente el diámetro de las fibras es similar entre ellas.

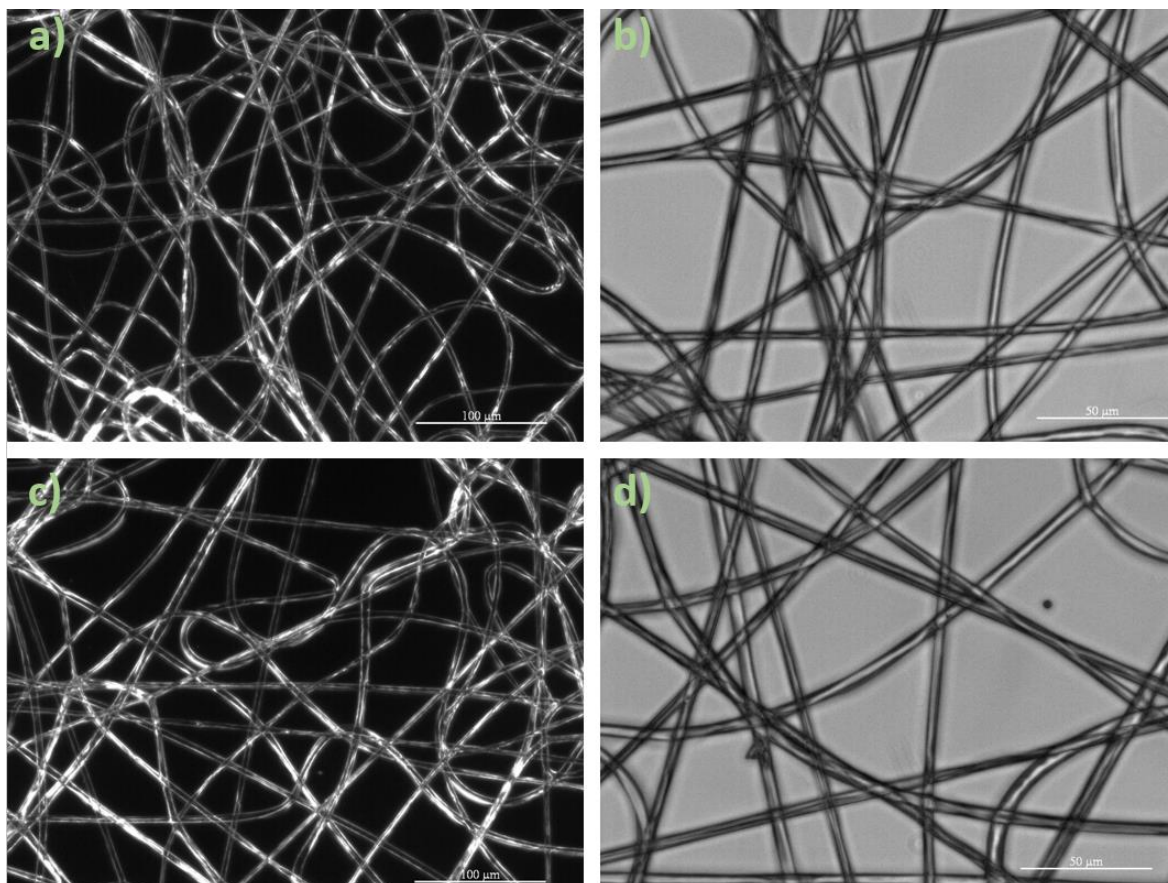


Figura 48. Imágenes de M.O de las fibras coaxiales de la Matriz 2. a) Muestra 1 (20x) [Tabla 15](#), b) Muestra 1 (40x) [Tabla 15](#), c) Muestra 2 (20x) [Tabla 15](#), d) Muestra 2 (40x) [Tabla 15](#).

En la [Tabla 16](#) se muestra los diámetros de las fibras coaxiales después de suspender las fibras en agua y también la pérdida de peso de las fibras después de la remoción del PEG, para ver si tiene algún efecto en la superficie de la fibra. La segunda muestra de la tabla, tiene un mayor porcentaje de PEG removido 98% por un 97% que se produce en la muestra 1. Este alto porcentaje de PEG removido en los dos *scaffolds*, da una primera idea de que las fibras obtenidas son coaxiales, ya que significa que las fibras contenían un alto contenido de PEG en el interior de la fibra antes de la inmersión en agua.

También puede observarse que el valor promedio de los diámetros antes y después de la solubilización del PEG varía muy poco (disminuyendo en la muestra 1 y aumentando en la muestra 2). Los resultados en esta matriz son contrarios a los mostrados en la Matriz 1, donde después de sumergir en agua las matrices, a menor flujo aumentaba el diámetro de las fibras y a mayor flujo (5 mL/h) el diámetro de las fibras obtenidas disminuía. ([Tabla 14](#)).

Junto a los valores promedio se ha calculado también la desviación estándar en ambos casos, observando que esta disminuye después de la inmersión en agua de las fibras, hecho que se verá reflejado en los histogramas estudiados en la [Figura 51](#).

Tabla 16. Diámetros (media y desviación estándar) de las fibras coaxiales de la Matriz 2 después de remover el PEG.

Muestra	Fibra	Polímero	Distancia	Flujo	Voltaje	\varnothing	$\Delta\varnothing$	PEG removido (%)
		% (w/w)	(cm)	(mL/h)	(kV)	(μm)	(μm)	
1	PEGc/PLAs	25/7	22,5	2,5	25	$5,10 \pm 0,60$	-0,10	97
2			22,5	5	25	$5,12 \pm 0,69$	0,40	98

De la misma manera que con la primera matriz, se ha examinado la morfología de las fibras coaxiales antes y después de suspender el *scaffold* en agua a 2,5 mL/h, ya que a menor flujo había menos problemas para mantener estable el cono de Taylor. La micrografía a bajo aumento de la Figura 49, da una idea de la regularidad de las fibras electrohiladas, pese a algún defecto que se ve presente en la red de fibras. Las imágenes c y d) a 2500 aumentos, muestran claramente la rugosidad característica de las microfibras de PLA. Como se ha visto también en la Figura 45, esta rugosidad corresponde a la presencia de estrías ordenadas paralelamente entre ellas y dispuestas en forma perpendicular al eje longitudinal de las fibras. La adición del bacteriófago *Phagestaph*TM a la disolución del núcleo parece no haber comportado cambios en las fibras, ya que de manera general la morfología de las fibras coaxiales es similar a la Matriz 1, fibras coaxiales sin los fagos. En el Anexo I se puede observar las imágenes del SEM obtenidas para las fibras coaxiales a 5 mL/h antes y después de la inmersión en agua.

La Figura 50 muestra la morfología de las fibras de la matriz 2 después de la inmersión en agua del *scaffold*. Las fibras en forma de cinta que se observan en las micrografías a 2500 aumentos, da una idea de que las fibras son coaxiales ya que son como consecuencia de que se haya vaciado el núcleo de la fibra coaxial inicial. Pese al cambio sufrido en la morfología de la fibra, de fibras rígidas con estrías a fibras aplastadas, es importante remarcar el hecho que después de la inmersión en agua la mayoría de las fibras no han sufrido una apertura longitudinal, lo que hubiese dificultado la distribución de los diámetros. Se puede concluir que debido a su alto porcentaje de PEG removido, y la homogeneidad en las fibras, las condiciones operacionales de este *scaffold* con la adición de fagos en el núcleo podrían ser consideradas como idóneas.

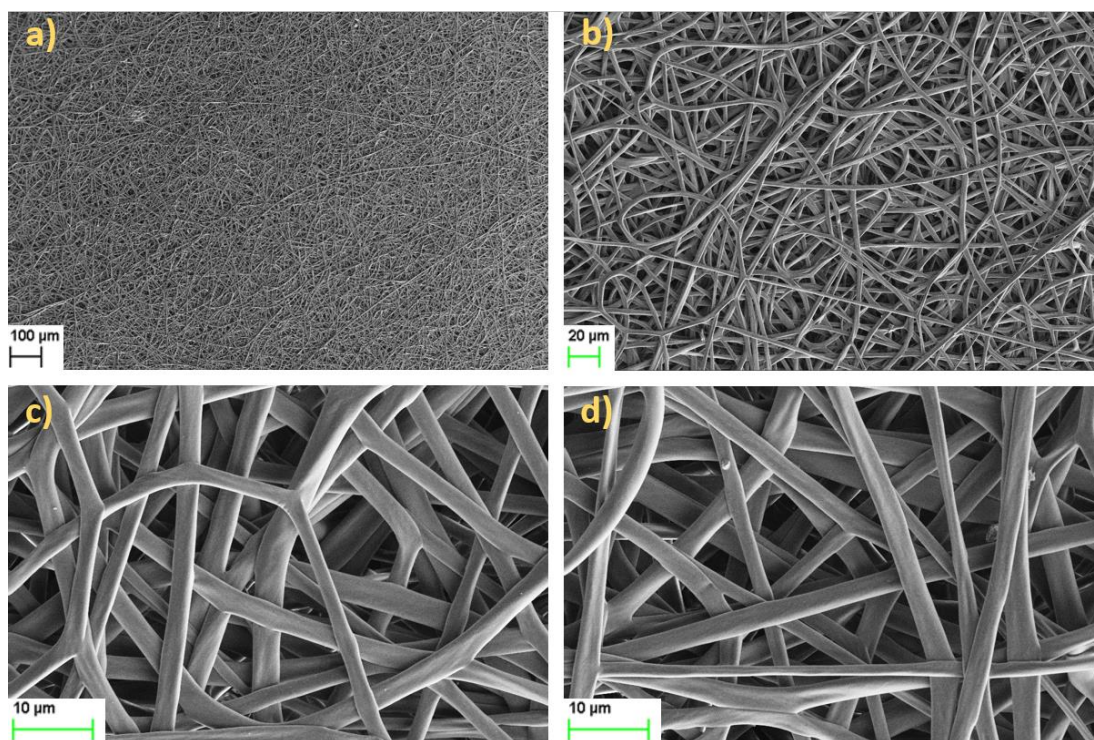


Figura 49. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 2. a) Vista a 100 aumentos, b) Vista a 500 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

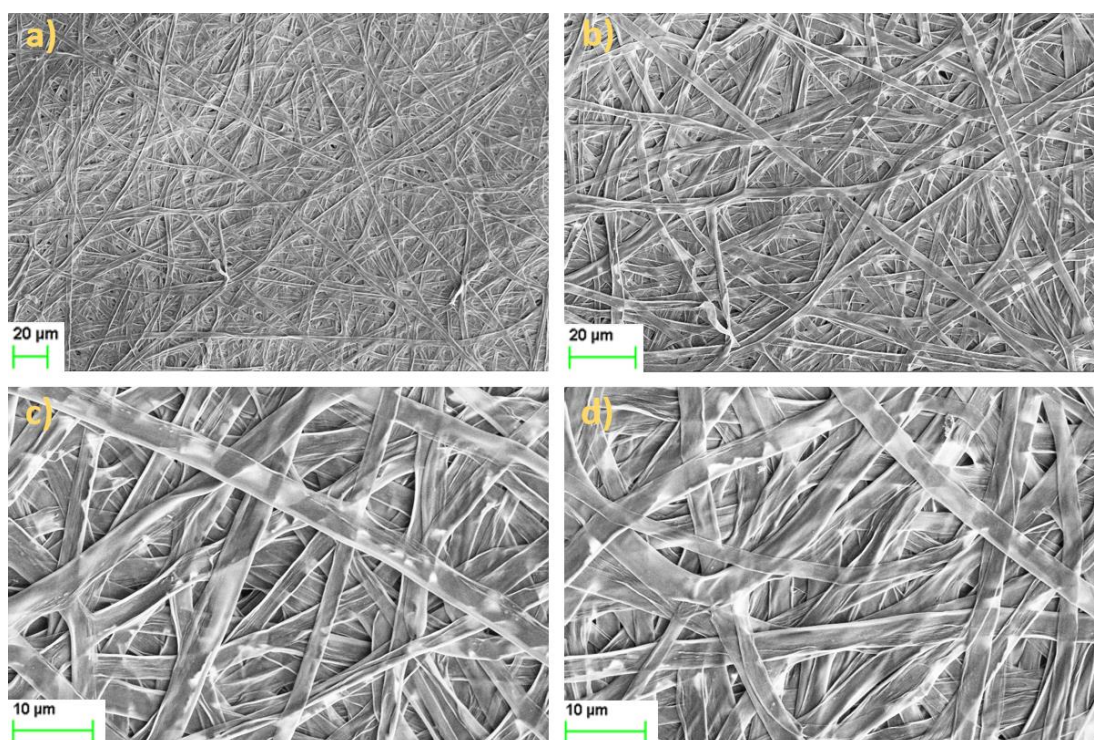


Figura 50. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 2 después de la inmersión en agua. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

Se ha analizado los cambios en los diámetros de las fibras antes y después de la remoción en PEG a través de los histogramas mostrados en la [Figura 51](#). Como se ha comentado anteriormente, los histogramas c y d) a 2,5 mL/h y 5 mL/h manteniendo el resto de condiciones operacionales constantes, muestran una menor desviación estándar que las fibras coaxiales antes de la inmersión en agua (histogramas a y b). Tanto antes de la suspensión en agua de las fibras como después, la desviación estándar respecto al valor promedio de los diámetros de las fibras es más pequeño en la muestra a menor flujo, lo que concuerda con los problemas que hubo durante el electrohilado a 5 mL/h.

La comparativa de la variación del valor promedio de los diámetros sirve para confirmar si las distribuciones de los diámetros sigue mostrándose unimodal después de la suspensión del PEG en agua (histograma a vs c), b vs d)). En los cuatro casos, la distribución de los diámetros es homogénea y siguen distribuciones Gaussianas unimodales.

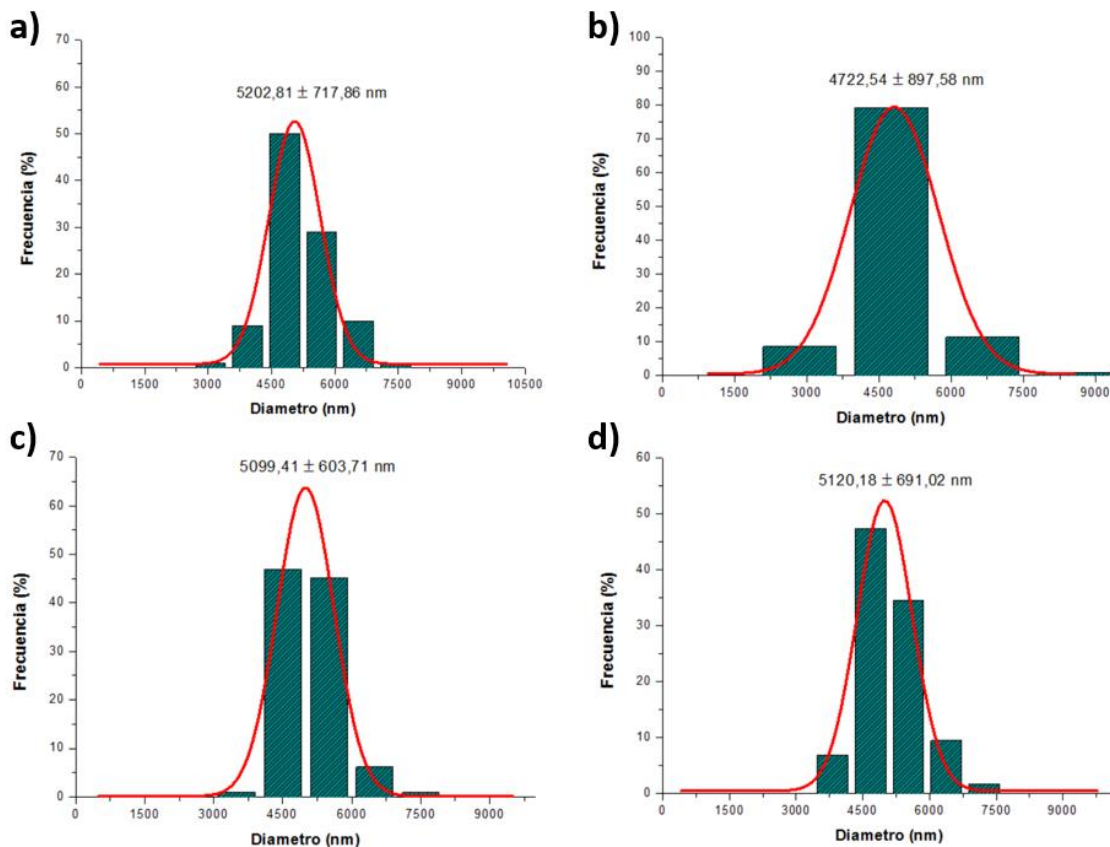


Figura 51. Distribución de los diámetros de las fibras coaxiales de la Matriz 2 antes y después de la inmersión en agua. a) Muestra 1 ([Tabla 15](#)), b) Muestra 2 ([Tabla 15](#)), c) Muestra 1 ([Tabla 16](#)), d) Muestra 2 ([Tabla 16](#)).

10.2.3. Matriz 3: Fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta con la adición de Lipasa.

Las condiciones operacionales que se utilizaron para el barrido operacional del *scaffold* 3 compuesto por fibras coaxiales de PEG en el núcleo y PLA en la cubierta adicionando un 10% w/w de Lipasa se muestran en la [Tabla 17](#). Como ocurría también en el [apartado 8.2](#), ha habido más problemas en la obtención de esta matriz que en las matrices 1 y 2 al añadir la enzima. Esto se debe porque había que estar continuamente limpiando la aguja al formarse subconos de Taylor que impedían acumular la cantidad necesaria de matriz para poder realizar el análisis de las fibras obtenidas (morfología, pérdida de peso, degradación, espectrometría infrarroja, etc.). Pese al pequeño cambio en el disolvente de la cubierta respecto a la fibra uniaxial de PLA, de Cloroformo a Cloroformo/Acetona (2:1) v/v, no se ha conseguido ninguna mejora en el electrohilado durante los ensayos.

Tabla 17. Ensayos de las condiciones del electrospinning coaxial de la Matriz 3.

Muestra	Fibra	Polímero % (w/w)	Enzima % (w/w)	Aguja	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	PEGc/PLAs	25/7	10	21G/14G	22,5	1	25	Fibras de PEG con fibras coaxiales.
2					22,5	2,5	25	Fibras coaxiales.
3					22,5	5	25	Fibras con beads.

Como se puede observar en las imágenes obtenidas mediante el microscopio óptico ([Figura 52](#)), la micrografía a) corresponde a la muestra 1 de la [Tabla 17](#), donde se ven claramente algunas fibras coaxiales, pero estas no muestran uniformidad entre ellas además de presentar algunas gotas y fibras de polietilenglicol entre la red de fibras acumulada. La micrografía b) es la muestra 3 a 5 mL/h, donde se ve la poca cantidad de fibras acumuladas y con defectos, ya que como se ha mencionado anteriormente el cono de Taylor formado no era regular. El experimento que pasó la criba mediante microscopía óptica fue la muestra 2, coincidiendo el flujo a la condición idónea de la segunda matriz cargada con fagos, a 2,5 mL/h. Como se observa en las micrografías c y d) a 20 y 40 aumentos a esta condición, se observa homogeneidad entre las fibras acumuladas y que estas no presentaban defectos.

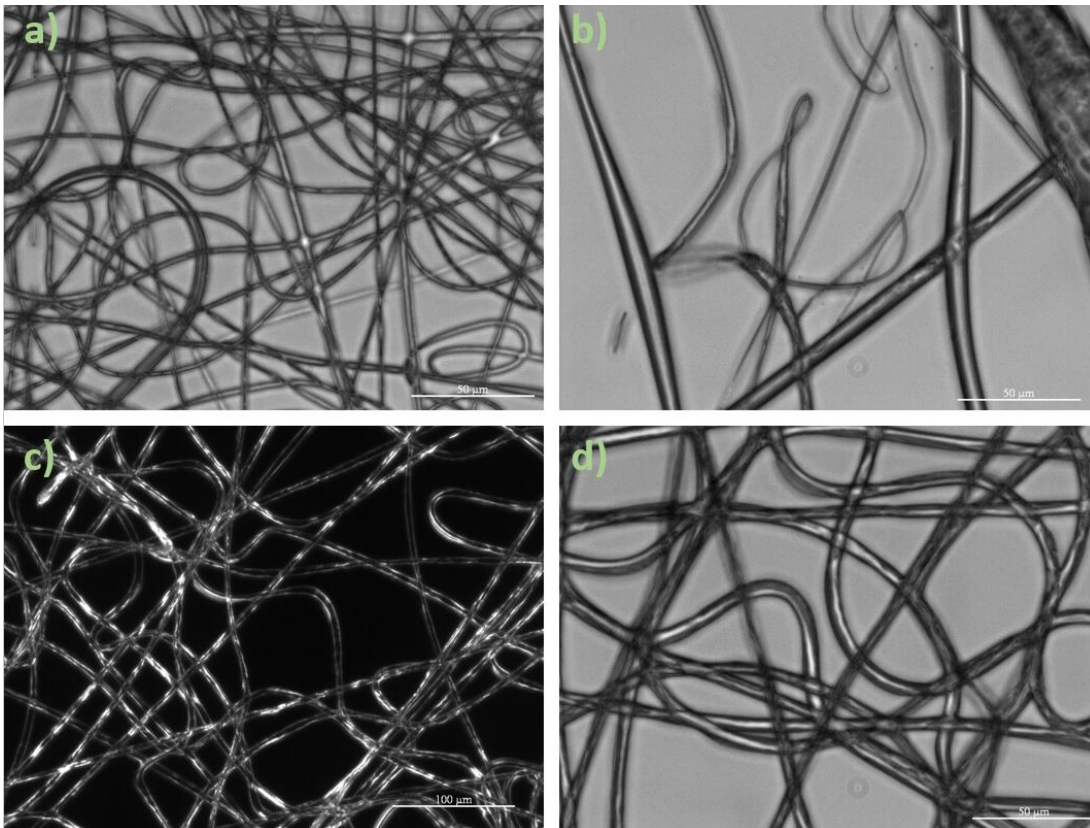


Figura 52. Imágenes de M.O de las fibras coaxiales de la Matriz 3. a) Muestra 1 (40x) [Tabla 17](#), b) Muestra 3 (40x) [Tabla 17](#), c) Muestra 2 (20x) [Tabla 17](#), d) Muestra 2 (40x) [Tabla 17](#).

Después de haber seleccionado como la mejor condición de fibras coaxiales la muestra a 2,5 mL/h, se estudió la morfología de las fibras para ver si variaban antes y después de la inmersión en agua mediante microscopia electrónica de barrido (SEM). Las micrografías b, c y d) de la [Figura 53](#), muestran como la matriz 3 antes de la inmersión presentaba fibras coaxiales con una superficie rugosa y que en algunas de las fibras aparecían defectos. Aparentemente las fibras muestran un diámetro menos uniforme que el mostrado en la matriz 1 y 2 antes de la inmersión. Esta mayor variabilidad en los diámetros se verá reflejada en la [Tabla 18](#) y en los histogramas mostrados en la [Figura 58](#).

La [Figura 54](#) muestra los cambios que adoptan las fibras coaxiales de la matriz 3 después de la remoción del PEG. En las micrografías b, c y d) se observa como la morfología de las fibras después de ser sumergidas en agua cambian considerablemente. Estos cambios se producen debido a la apertura longitudinal que han sufrido algunas de las fibras durante el proceso de resolubilización del PEG como consecuencia de la fuerte presión hidrostática a la que se han visto sometidas. Estas fibras abiertas que se ven con mayor claridad en las micrografías a 2500 aumentos, imposibilitaban la medida de los diámetros en algunas de las fibras. De la misma manera que en la [Figura 53](#), los diámetros de las fibras después de la suspensión en agua son más heterogéneos, lo que conduce a pensar que la desviación estándar en este *scaffold* será mayor que las matrices 1 y 2.

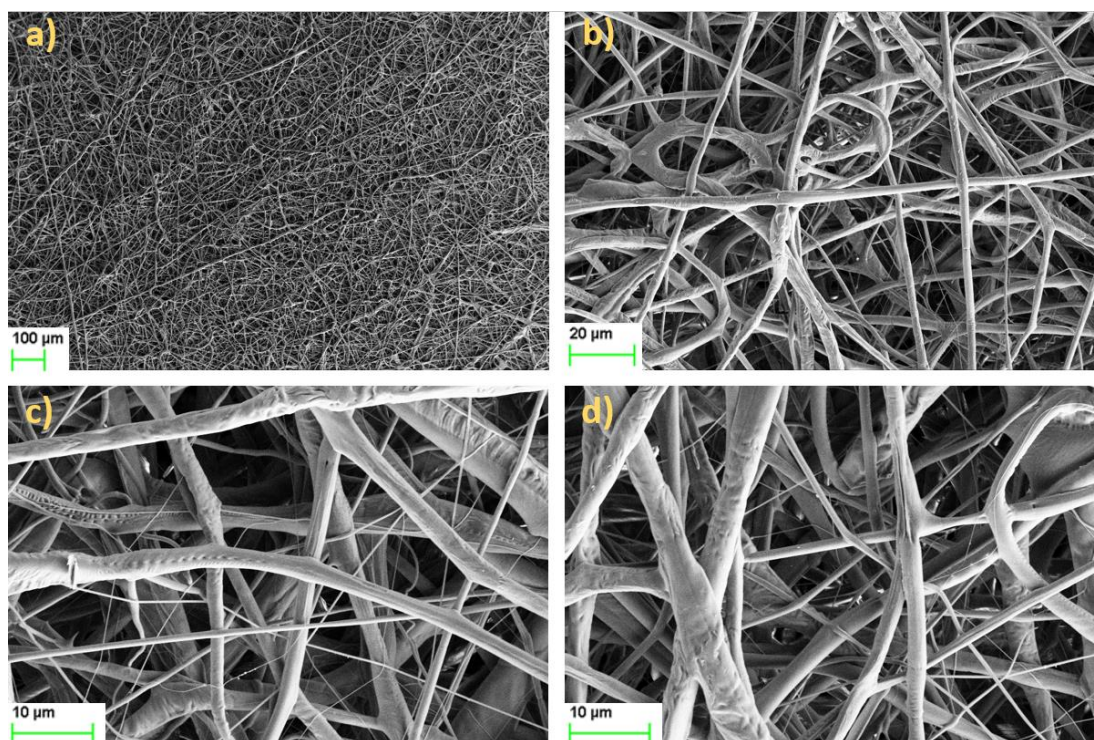


Figura 53. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 3. a) Vista a 100 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

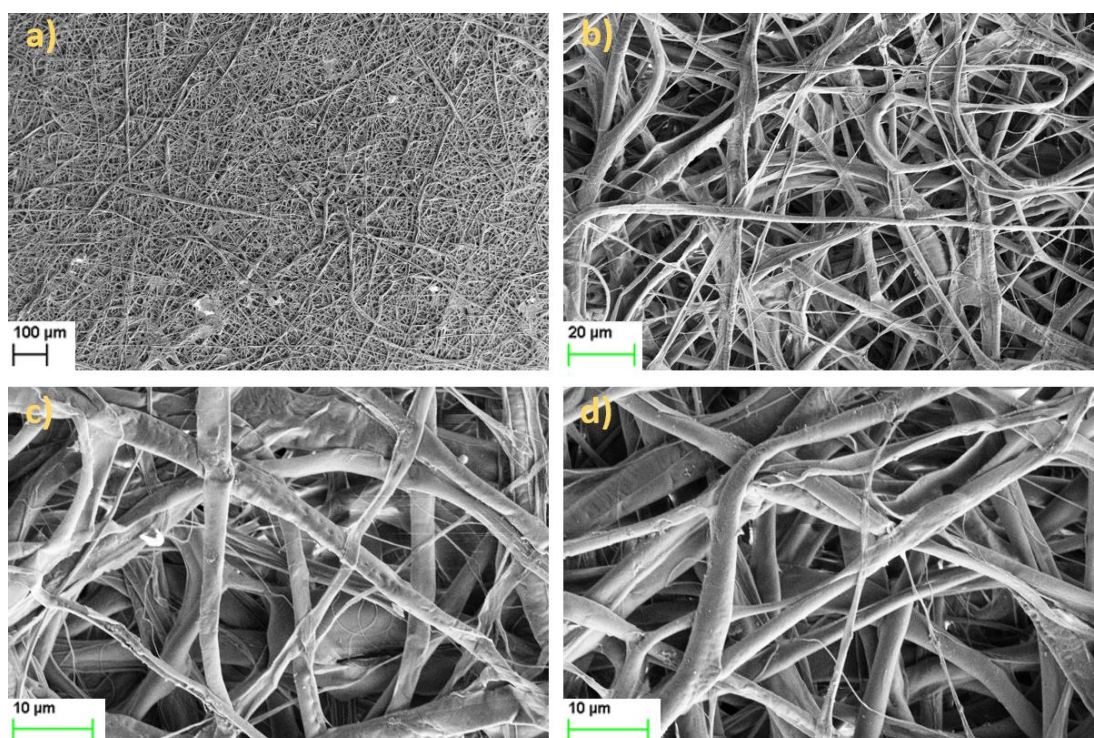


Figura 54. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 3 después de la inmersión en agua. a) Vista a 100 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

Tabla 18. Diámetro (media y desviación estándar) de las fibras coaxiales de la Matriz 3 antes y después de remover el PEG.

Muestra	Fibra	Polímero	Enzima	Ø inicial	Ø tras remover	ΔØ	PEG removido (%)
		% (w/w)	% (w/w)	(μm)	(μm)	(μm)	
2	PEGc/PLAs	25/7	10	5,02 ± 0,88	5,12 ± 0,99	0,10	95

Pese al alto porcentaje de PEG removido, 95%, éste es menor que en la matriz 1 y 2, lo que tiene coherencia con la Figura 53 y 54, ya que existe una mayor variabilidad de las fibras coaxiales que demuestran que no todo el PEG es solubilizado.

De la misma manera que se estudió en el apartado 8.2 para las fibras uniaxiales de PLA en Cloroformo con la adición de Lipasa, se estudió la degradación de la cubierta de las fibras coaxiales (PLA) mediante el cálculo de su pérdida de masa. Las dos primeras columnas de la Tabla 19 corresponden al peso de las ocho muestras de 1x1 cm² cortadas inicialmente. Las dos columnas siguientes corresponden con el peso seco de las matrices degradándose el ácido poliláctico tras 3 y 7 días de exposición. Las últimas columnas restantes, corresponden al grado de degradación de las matrices analizadas.

El promedio de la pérdida de masa tras 72 y 168 horas de exposición se ha representado mediante columnas en la Figura 55.

Tabla 19. Degradación de las fibras coaxiales de la matriz 3 añadiéndole Lipasa.

	Peso de las matrices inicial (g)		Peso seco a los 3 días (g)	Peso seco a los 7 días (g)	Grado de degradación (%)	
	Cloroformo/Acetona (2:1 v/v)					
	1	2	1	2	1	2
A	0,0028	0,001	0,0025	0,0009	10,71%	10,00%
B	0,0005	0,0004	0,0004	0,0002	20,00%	50,00%
C	0,0008	0,0007	0,0007	0,0006	12,50%	14,29%
D	0,0002	0,0007	0,0002	0,0005	0,00%	28,57%

La pérdida de masa es aproximadamente del 11% después de 3 días de exposición y del 26% tras 7 días de degradación. Los resultados muestran una pérdida de masa muy inferior comparándolos con los obtenidos en el caso de las fibras uniaxiales de PLA en Cloroformo añadiéndole Lipasa (24% tras las primeras 72 horas y cerca del 46% después de 168 horas). Tras los 3 primeros días de exposición, se observa un ligero aumento en el grado de degradación, 26%, pese a que este dato puede resultar poco fiable ya que dos de los trozos cortados tras los 7 días muestran una degradación menor al 15% (Tabla 19).

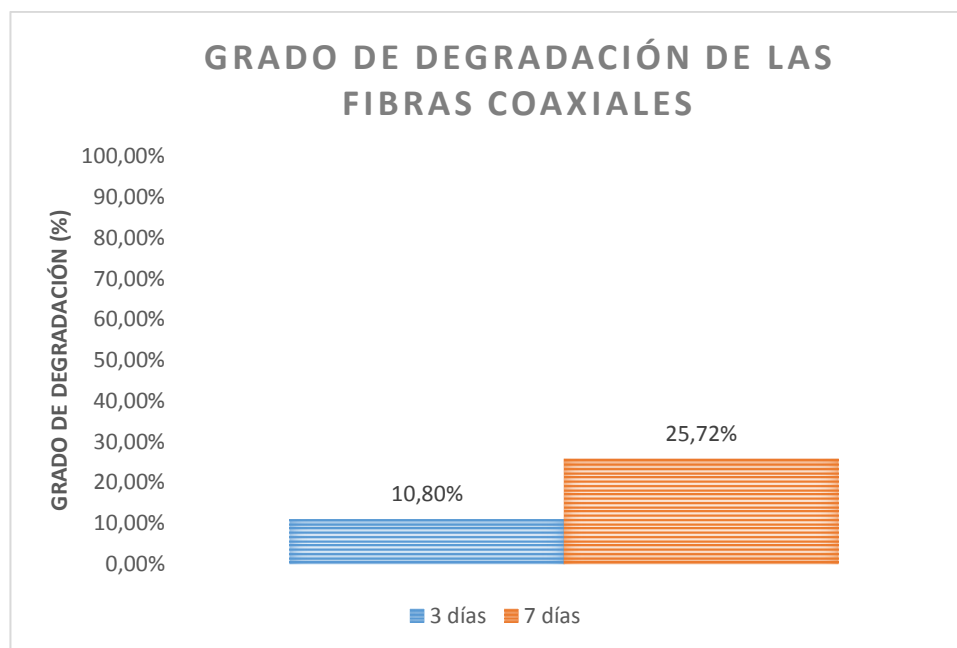


Figura 55. Grado de degradación de las fibras coaxiales de la matriz 3 añadiendo Lipasa tras 3 y 7 días.

A continuación se muestran las micrografías de los *scaffolds* realizadas con el SEM a bajos y a altos aumentos en la Figura 56 durante el ataque enzimático después de 3 días de degradación. Se puede observar claramente como la superficie de la fibra ha cambiado respecto a la matriz inicial (Figura 53), pero estas no parecen degradadas, hecho que coincide con el bajo porcentaje del grado de degradación obtenido. Pese a que el ataque enzimático apenas ha hecho efecto en la superficie de las fibras coaxiales, se puede ver con mayor claridad en las micrografías c y d) a 2500 aumentos como las fibras obtenidas son coaxiales, ya que éstas se han vaciado y presentan una forma de cinta.

También se estudió mediante SEM la morfología de las fibras coaxiales después de 168 horas de exposición de los *scaffolds*. En la imagen a 500 aumentos Fig 57 a) aparece la red de fibras con pocas imperfecciones, buen síntoma de que las partículas de la enzima han estado bien disueltas en el momento de realizar el electrohilado. Pese a los 4 días más que han estado expuestas las fibras coaxiales respecto a la Figura 56, no se observan grandes cambios en la superficie de estas característicos de cuando el ataque enzimático ha resultado efectivo (cambio a fibras gruesas, abundantes grietas y roturas, desintegración de las fibras). Pese que tras 7 días de exposición el grado de degradación era del 26%, es razonable afirmar que la adición de la Lipasa no ha surtido efecto si comparamos las imágenes con las obtenidas en las fibras uniaxiales de PLA en Cloroformo añadiéndole la enzima (Figura 40). Una posible explicación es que la actividad de la Lipasa se haya visto disminuida por la presencia de la Acetona en la cubierta, estudio ya investigado por *Kamal et al* [39]. Posibles soluciones a este problema serían incrementar la concentración de la Lipasa a un 20-30% w/w o intentar electrohilar las fibras coaxiales usando de disolvente en la cubierta únicamente Cloroformo.

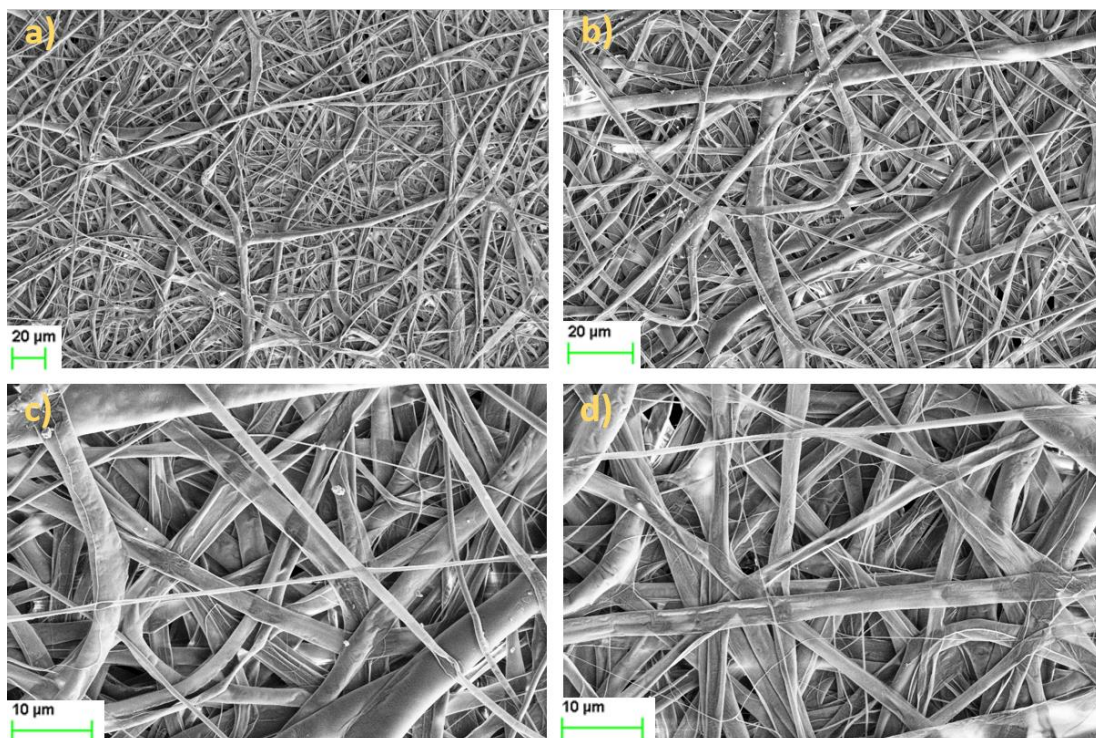


Figura 56. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 3 añadiendo Lipasa a los 3 días. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

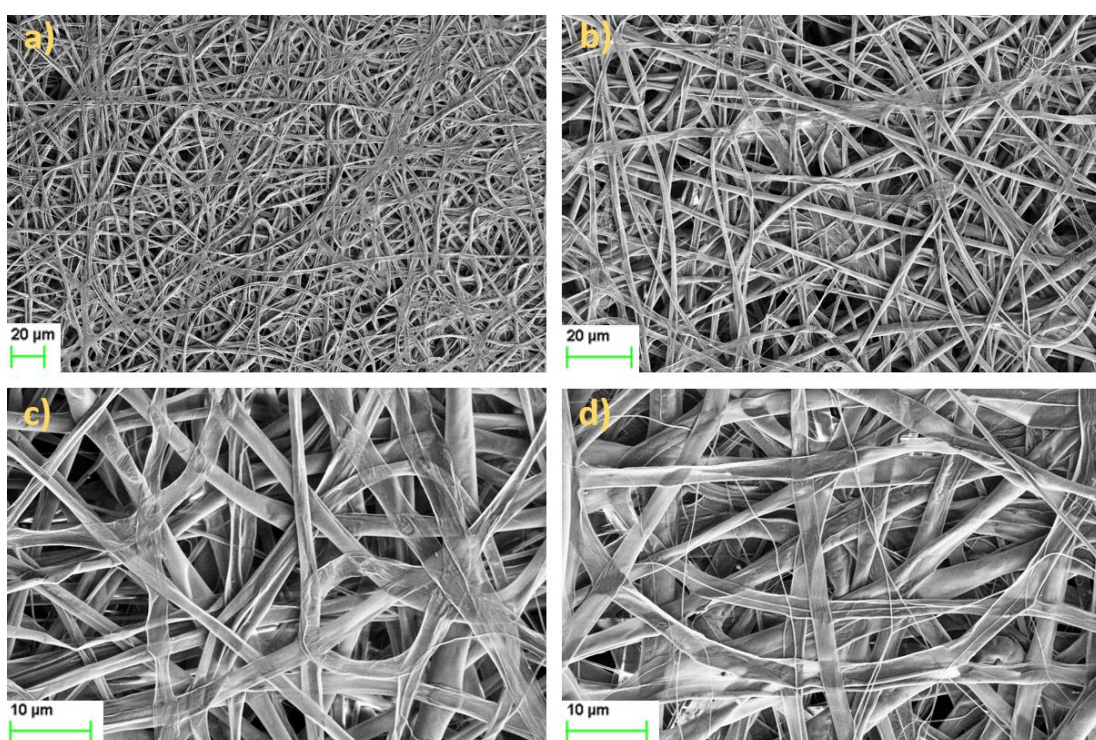


Figura 57. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 3 añadiendo Lipasa a los 7 días. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

El análisis de la distribución de los diámetros se muestra en los histogramas a y b) de la [Figura 58](#), que corresponden a la matriz antes y después de la inmersión en agua. Se puede comprobar que la distribución en ambos casos es unimodal Gaussiana, lo que garantiza el hecho de que la matriz fue electrohilada bajo condiciones idóneas (distancia aguja-colector de 25 cm, voltaje a 25 kV y flujo a 2,5 mL/h). El valor promedio de los diámetros se muestra encima de los histogramas con su respectiva desviación estándar. Las desviaciones mostradas son mayores que las obtenidas tanto en la matriz 1 y 2, lo que concuerda con las dificultades que hubo para el electrohilado de esta matriz respecto a las dos primeras. Pese a la incorporación de la enzima en la cubierta de la fibra coaxial (PLA), no se observa un incremento del diámetro de las fibras significativo (alrededor de los 5 micrometros en los dos casos).

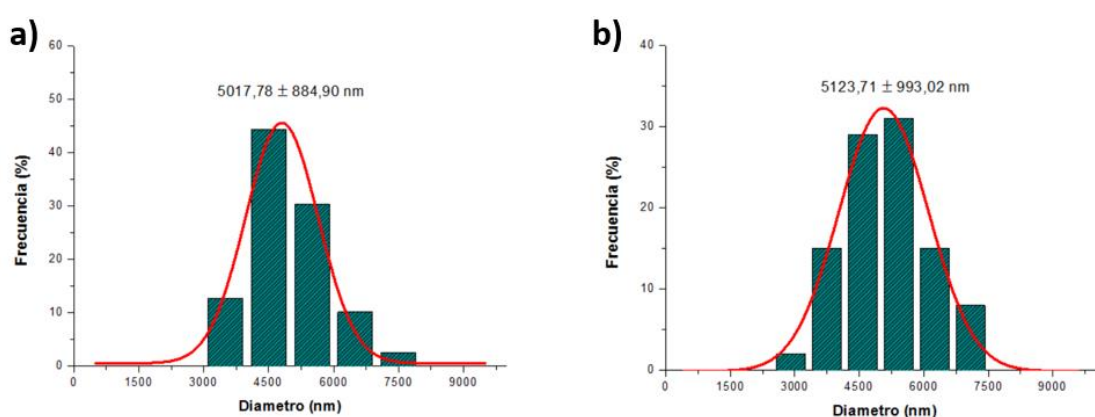


Figura 58. Distribución de los diámetros de las fibras coaxiales de la matriz 3 antes y después de la inmersión en agua. a) Muestra 2 ([Tabla 18](#)) antes de la inmersión, b) Muestra 2 ([Tabla 18](#)) después de la inmersión en agua.

10.2.4. Matriz 4: Fibras coaxiales de PEG cargado con fagos y PLA en la cubierta con la adición de Lipasa.

En la [Tabla 20](#) se presentan los ensayos de las condiciones realizadas para la obtención de las fibras coaxiales de la matriz 4. La generación de este *scaffold* de mayor complejidad, está constituido por fibras coaxiales de PEG en el núcleo cargado al 25% w/w en una mezcla de Cloroformo/*Phagestaph*TM (1:1 v/v) y de PLA en la cubierta al 7% w/w en una mezcla Cloroformo/Acetona (2:1 v/v) añadiéndole Lipasa al 10% w/w. De la misma manera que ocurría en la obtención de la matriz 3, durante el electrohilado de esta matriz se formaban subconos de Taylor continuamente que impedían poder acumular la cantidad de matriz deseada. Como consecuencia de ello, se tenía que ir limpiando la punta de la aguja periódicamente.

Tabla 20. Ensayos de las condiciones del electrospinning coaxial de la Matriz 4.

Muestra	Fibra	Polímero % (w/w)	Enzima % (w/w)	Aguja	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Voltaje (kV)	Morfología
1	PEGc/PLAs	25/7	10	21G/14G	22,5	2,5	25	Fibras coaxiales.
2					22,5	5	25	Fibras coaxiales con gotas.

En las imágenes obtenidas por microscopia óptica ([Figura 59](#)), las micrografías a y b) corresponden a las fibras coaxiales a 2,5 mL/h. En ellas se puede observar como las fibras electrohiladas parecen no tener grandes defectos en ellas. Por el contrario, en las micrografías c y d) tanto a 20 como a 40 aumentos se aprecian fibras coaxiales que no han acabado de formarse correctamente. Esto puede ser como consecuencia de los múltiples subconos de Taylor que se iban creando a medida que se realizaba el ensayo. En las imágenes también se puede distinguir como el diámetro de las fibras era heterogéneo, por lo que se descartó esta condición para los posteriores análisis (morfología, pérdida de masa, etc.). Pese a la obtención de fibras coaxiales, es necesario tener en cuenta para próximos ensayos de este *scaffold* la posibilidad de realizar el electrohilado coaxial con dos bombas de desplazamiento. Con una relación de flujo adecuada entre la cubierta y el núcleo, podría mejorar considerablemente el electrohilado, lo cual facilitaría una mayor recolección de fibras coaxiales con la finalidad de realizar más técnicas de caracterización (ángulos de contacto, resonancia magnética nuclear, etc.).

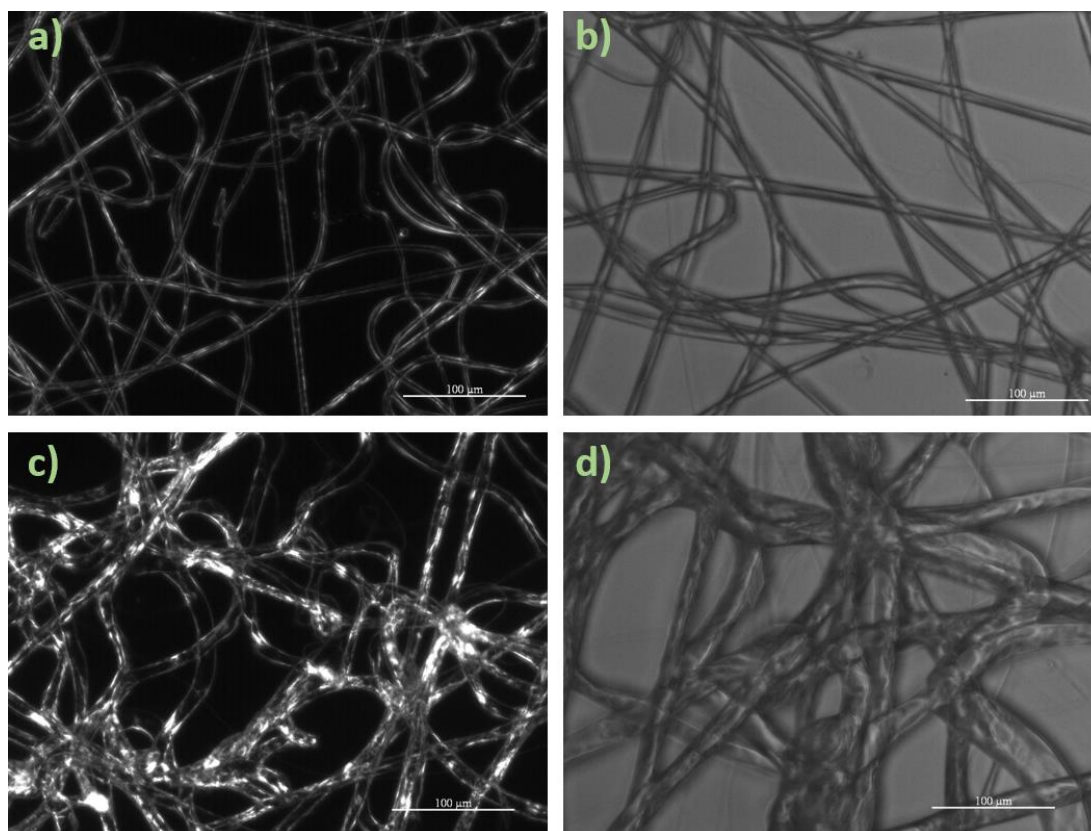


Figura 59. Imágenes de M.O de las fibras coaxiales de la Matriz 4. a) Muestra 1 (20x) [Tabla 20](#), b) Muestra 1 (40x) [Tabla 20](#), c) Muestra 2 (20x) [Tabla 20](#), d) Muestra 2 (40x) [Tabla 20](#).

Tabla 21. Diámetro (media y desviación estándar) de las fibras coaxiales de la Matriz 4 antes y después de remover el PEG.

Muestra	Fibra	Polímero	Enzima	Ø inicial	Ø tras remover	ΔØ	PEG removido (%)
		% (w/w)	% (w/w)	(μm)	(μm)	(μm)	
2	PEGc/PLAs	25/7	10	4,98 ± 1,07	4,50 ± 0,81	-0,48	92

En la [Tabla 21](#) se muestran los diámetros de las fibras coaxiales cargadas con fagos y añadiéndole Lipasa en la cubierta antes y después de suspenderlas en agua. Se puede observar que tras remover el PEG, el diámetro disminuye como también ocurría en la matriz 1 a 5 mL/h. Una posible explicación a este suceso, es que tras entrar en contacto las fibras con el agua, estas se hayan contraído y luego vaciado, explicando de este modo la disminución en el diámetro. También cabe remarcar que este suceso también se ha dado en la matriz 2, ambas cargadas con bacteriófagos en el núcleo.

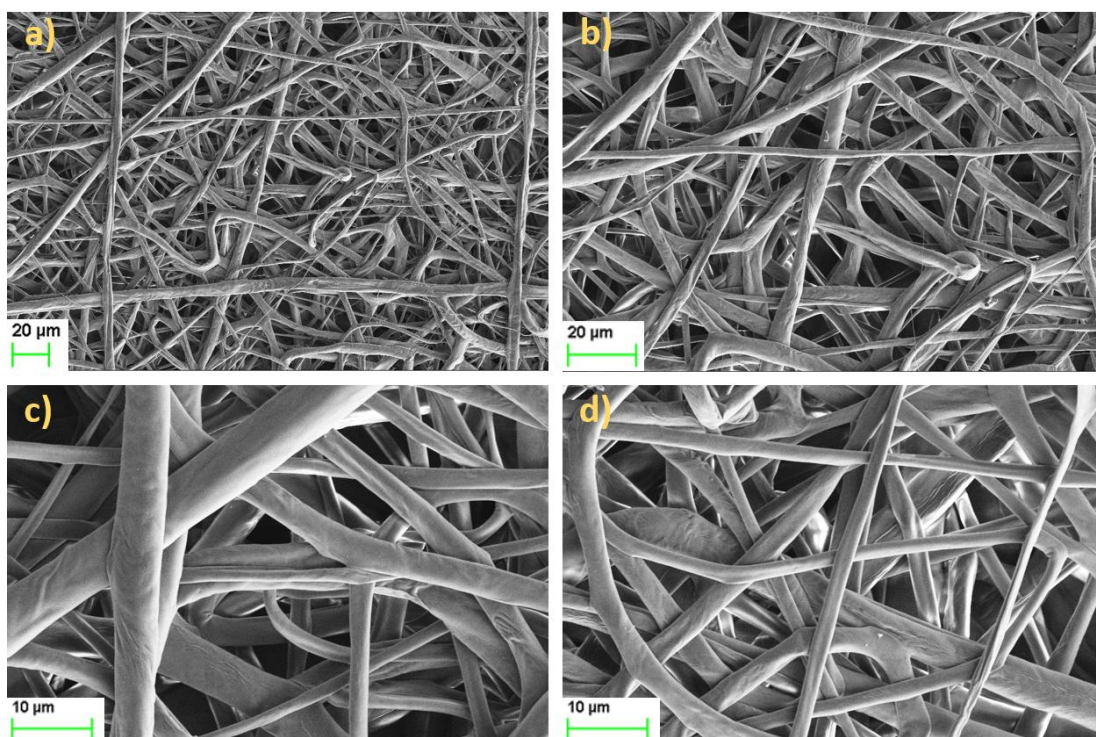


Figura 60. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 4. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

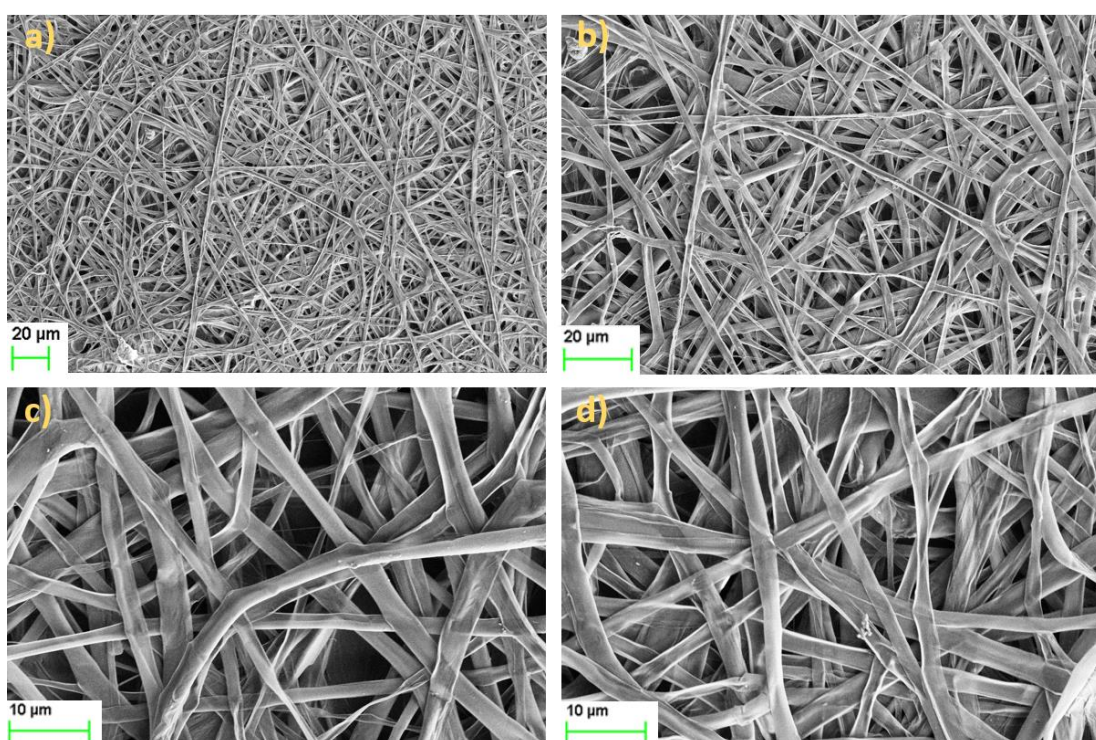


Figura 61. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 4 después de la inmersión en agua. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

A continuación se analiza la morfología de las fibras coaxiales del cuarto *scaffold* antes y después de la inmersión en agua. Las micrografías a bajos aumentos de las Figuras 60 y 61, nos muestran como la red de fibras electrohilada es compacta, pese a algunos defectos observables debidos a la no asimilación completa de la enzima. Las micrografías c y d) de la Figura 60, muestran que la superficie de la fibra presenta estrías transversales propias del PLA. Además, también se observa que el diámetro de las fibras parece mostrar una mayor variabilidad de los diámetros respecto a las matrices 1, 2 y 3. Este hecho se confirmará cuando se discuta la distribución de los diámetros de la Figura 65.

Las micrografías a 2500 aumentos de la Figura 61, muestra la morfología característica de las fibras coaxiales, fibras aplastadas que indican que se ha perdido el PEG durante la solubilización (95%). Respecto al diámetro, las fibras después de la inmersión parecen mostrar una mayor homogeneidad que las de la Figura 60. El resultado obtenido demuestra que es posible cargar los fagos en el PEG y la enzima en la cubierta conjuntamente al no verse alterado significativamente las fibras coaxiales obtenidas.

Del mismo modo que se realizó el proceso de degradación para las fibras coaxiales obtenidas en la matriz 3, se ha hecho el estudio del grado de degradación que mostraba el ácido poliláctico tras 3 y 7 días de exposición. Los resultados obtenidos del grado de degradación individual de cada matriz analizada se muestran a continuación (Tabla 22).

Tabla 22. Degradación de las fibras coaxiales de la matriz 4 añadiéndole Lipasa.

	Peso de las matrices inicial (g)		Peso seco a los 3 días (g)	Peso seco a los 7 días (g)	Grado de degradación (%)	
	Cloroformo/ Acetona (2:1 v/v)					
	1	2	1	2	1	2
A	0,0009	0,0005	0,0008	0,0005	11,11%	0,00%
B	0,001	0,0011	0,0008	0,0008	20,00%	27,27%
C	0,001	0,0012	0,0009	0,0008	10,00%	33,33%
D	0,0006	0,0004	0,0006	0,0003	0,00%	25,00%

El promedio del grado de degradación tras 72 y 168 horas de exposición se ha graficado mediante columnas en la Figura 62. Los resultados obtenidos confirman que lo que ocurrió en el apartado 10.2.3 cuyo grado de degradación de la matriz fue del 10,80% y del 25,72% no fue casualidad, sino que la acetona desnaturizaba la enzima y esta perdía en un porcentaje elevado su actividad enzimática. Con los bajos resultados del grado de degradación obtenidos tras 3 y 7 días, se puede concluir que para degradar la cubierta habría que suprimir de la mezcla de disolventes la Acetona.

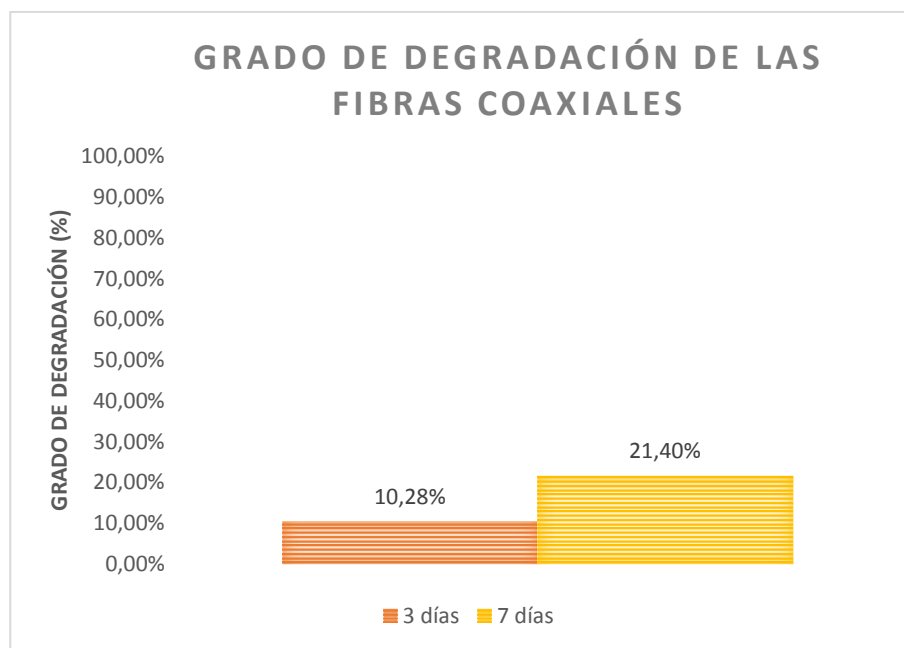


Figura 62. Grado de degradación de las fibras coaxiales de la matriz 4 añadiendo Lipasa tras 3 y 7 días.

Las Figuras 63 y 64 muestran la morfología de las fibras coaxiales después de 72 y 168 horas de degradación. En ambos casos, las micrografías a bajos aumentos muestran que hay pocas imperfecciones en la red de las fibras, por lo que ésta se ha disuelto bien durante el electrohilado. Las micrografías a alta magnificación de la Figura 63 no muestran ningún cambio característico de que la degradación de la enzima haya hecho efecto, como que la superficie de la fibra se haya vuelto rugosa. Este resultado es coherente con el bajo porcentaje de grado degradación obtenido para este tiempo (10,28%).

Lejos de observarse una mejora en cuanto a una aceleración en la actividad enzimática después de 7 días, en las micrografías c y d) de la Figura 64 no se observan perforaciones en la superficie de las fibras coaxiales ni que estas se hayan desintegrado mínimamente.

Pese a este resultado, se puede observar como las fibras muestran una morfología aplanada característica distintiva de las fibras coaxiales.

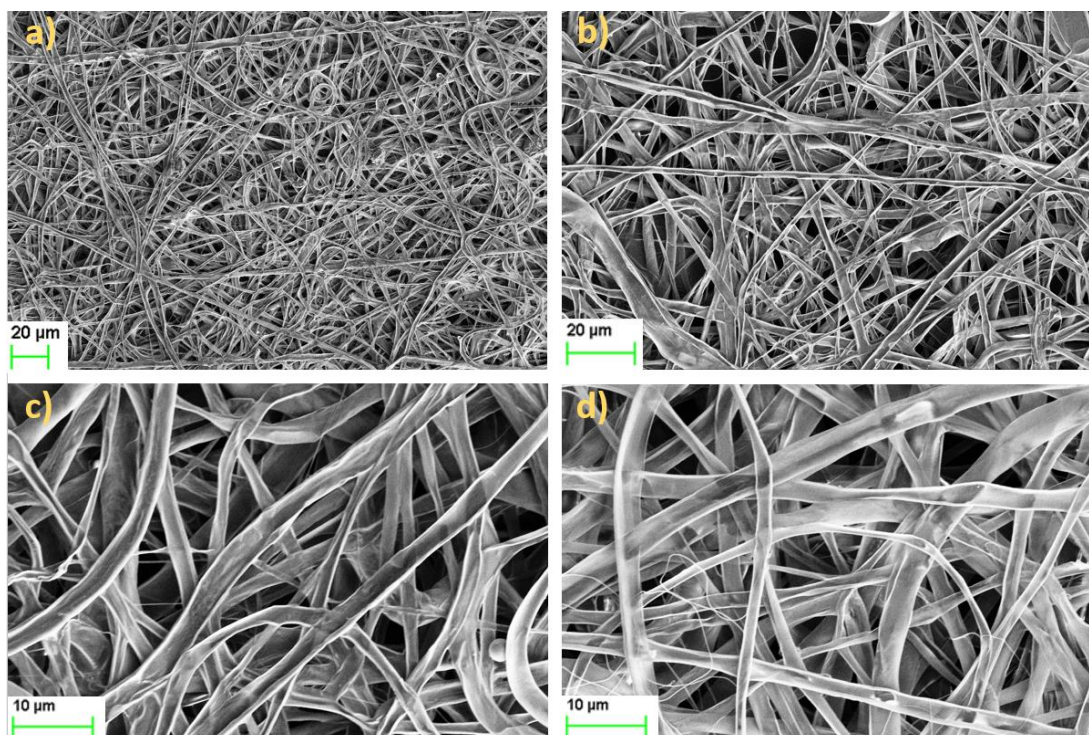


Figura 63. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 4 añadiendo Lipasa a los 3 días. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

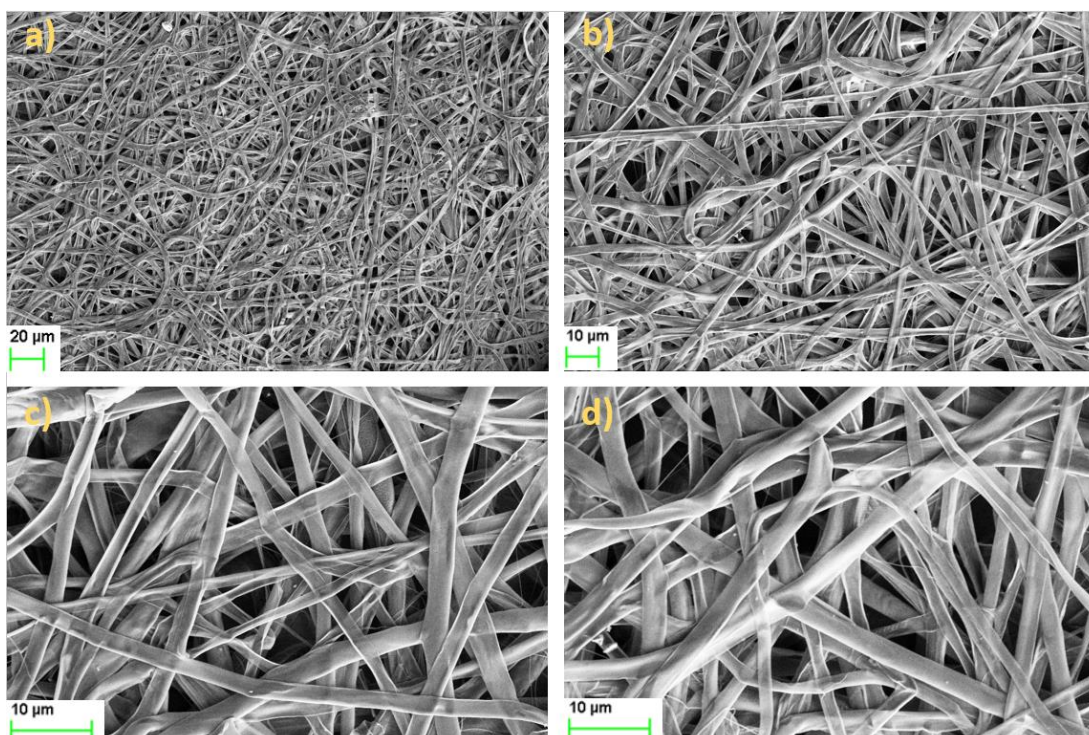


Figura 64. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 4 añadiendo Lipasa a los 7 días. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

Mediante las imágenes obtenidas del SEM, se han determinado los diámetros promedios de la matriz 4 antes y después de la remoción del PEG (Figura 65). El histograma a) presenta una mayor distribución de diámetros respecto al b), lo que se ve reflejado en una mayor desviación estándar de las fibras antes de la inmersión en agua. Este dato refleja lo ya comentado anteriormente en las micrografías a 2500 aumentos de la Figura 60. Se puede confirmar el éxito del electrohilado coaxial en las 4 matrices al obtener todas las fibras en escala micrométrica. Además, en esta ocasión las distribuciones también muestran una tendencia Gaussiana unimodal.

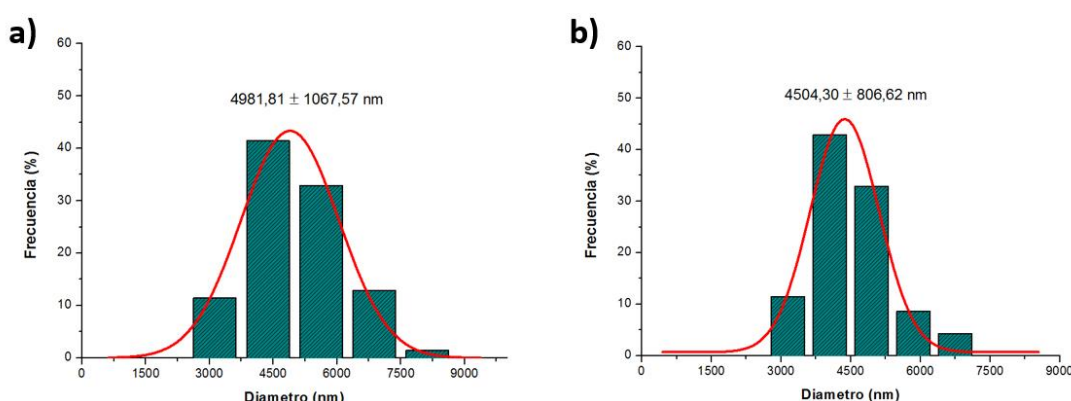


Figura 65. Distribución de los diámetros de las fibras coaxiales de la matriz 4 antes y después de la inmersión en agua. a) Muestra 2 (Tabla 21) antes de la inmersión, b) Muestra 2 (Tabla 21) después de la inmersión en agua.

10.2.5. Caracterización fisicoquímica de las fibras mediante FTIR

Los espectros IR de las los cuatro *scaffolds* de fibras coaxiales antes y después de la inmersión en agua se han analizado cualitativamente comparándolos con los homopolímeros de las matrices (PLA y PEG). En la Figura 66 se muestran los 6 espectros: a) PLA 2002D, b) Matriz 1, c) Matriz 2, d) Matriz 3, e) Matriz 4 y f) PEG 35000 g·mol⁻¹ antes de la inmersión en agua de las fibras coaxiales.

Como se puede observar, en las 4 matrices aparecen los picos característicos del ácido poliláctico y del polietilenglicol, buen indicador de que las fibras obtenidas en los cuatro casos están formadas por los dos polímeros. Los picos característicos del PLA a 1749, 1453 y 1181 cm⁻¹, son los ya comentados en el apartado 7.2, pertenecientes a los grupos C=O, -CH₃, y C-O-C. Pese a que no se ha indicado como pico característico del PLA la banda ancha que aparece sobre los 2360 cm⁻¹ en las matrices 2, 3 y 4, éste corresponde al CO₂. Para el PEG, las bandas características se encuentran a 838, 958, 1093 y a 2877 cm⁻¹, dónde la banda a 1093 corresponde al grupo funcional éter, mientras que los picos restantes mencionados pertenecen a bandas referentes al metileno (-CH₂).

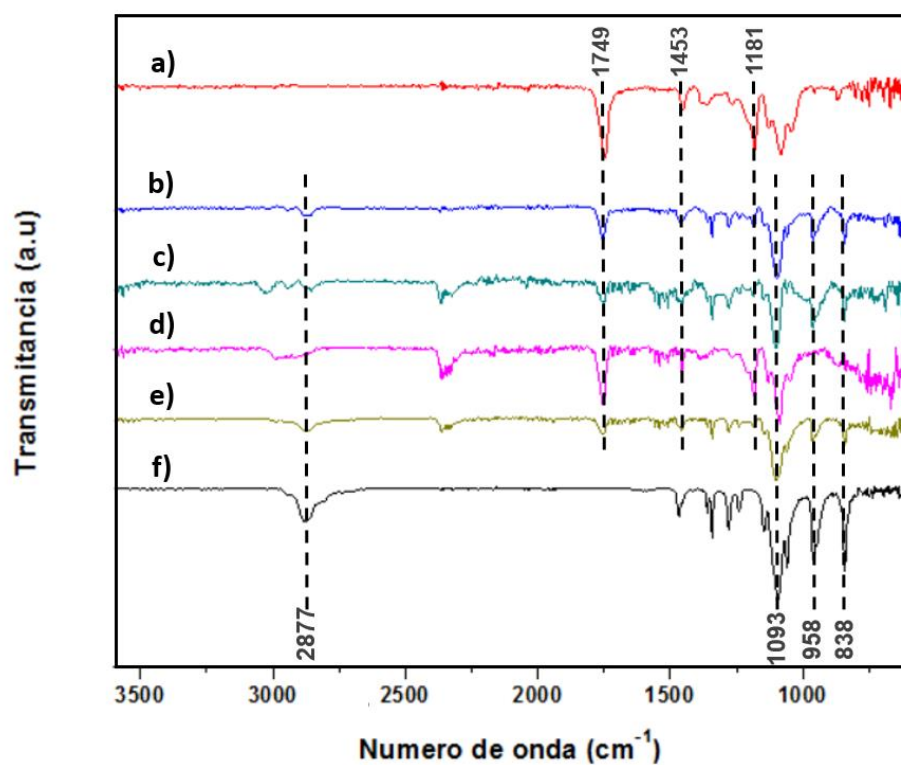


Figura 66. Espectro IR del PLA amorfo (a), *Matriz 1* (b), *Matriz 2* (c), *Matriz 3* (d), *Matriz 4* (e), PEG 35000 (f) antes de la inmersión en agua.

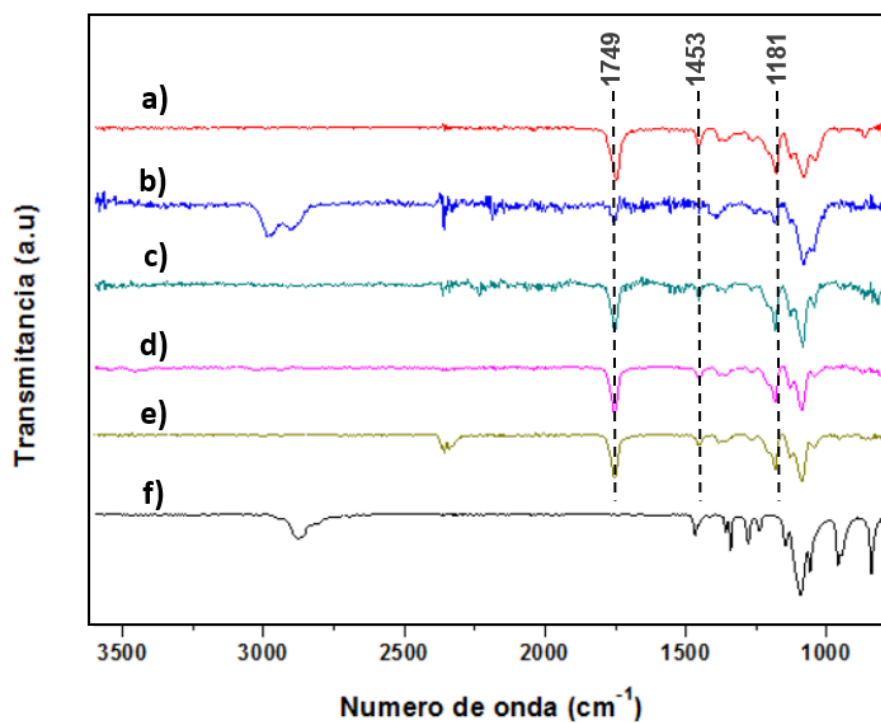


Figura 67. Espectro IR del PLA amorfo (a), *Matriz 1* (b), *Matriz 2* (c), *Matriz 3* (d), *Matriz 4* (e), PEG 35000 (f) después de la inmersión en agua.

La [Figura 67](#) muestra la caracterización de las fibras coaxiales por FTIR después de la inmersión en agua. En ella, se aprecia una evolución respecto a la [Figura 66](#), ya que después de la remoción del núcleo de las fibras, éstas han perdido en un alto porcentaje el PEG. Este cambio se observa en la pérdida de las bandas metileno a 2877, 958 y 838 cm^{-1} , además del grupo funcional éter a 1093 cm^{-1} .

Como cabía esperar, las 4 matrices siguen indicando señales en los picos característicos del ácido poliláctico como también sucedía antes de la inmersión.

10.2.6. Actividad antibacteriana de las fibras coaxiales cargadas con bacteriófagos

Para demostrar la actividad antibacteriana de las fibras coaxiales cargadas con bacteriófagos (Matriz [2](#) y [4](#)) respecto a sus análogas sin fagos (Matriz [1](#) y [3](#)), éstas se evaluaron mediante un ensayo cuantitativo de la inhibición del crecimiento bacteriano en caldo de cultivo. Los resultados obtenidos de este ensayo tras 4 y 8 horas de liberación de los bacteriófagos se muestran en las Figuras [68](#) y [69](#), donde se representa el crecimiento bacteriano relativo (%) en función del tiempo de cultivo (h) para cada una de las matrices y el control.

Para la interpretación de los resultados, es necesario remarcar que el crecimiento bacteriano relativo se obtiene de la lectura que se ha ido monitorizando de la turbidez, la cual está relacionada directamente con la concentración de las bacterias. Mientras que el incremento de la turbidez evidencia que las bacterias han crecido con normalidad, una disminución indica muerte bacteriana.

En la [Figura 68](#) se puede observar mediante la curva del control, que el período de adaptación de las bacterias ha sido de dos horas, ya que en este momento la bacteria *Staphylococcus Aureus* entra en la fase de crecimiento exponencial (cambio de pendiente de la curva). Sin embargo, en la liberación de los fagos a las 4 horas, para las matrices se puede ver un desplazamiento en el crecimiento de las bacterias tanto en la [Figura 68](#) como en la [69](#). Una posible explicación a este suceso podría ser que en las matrices aun queden restos del disolvente (Cloroformo). Pese a ello, se puede distinguir que la matriz 2 cargada con bacteriófagos muestra una disminución del crecimiento bacteriano respecto a su control (matriz 1).

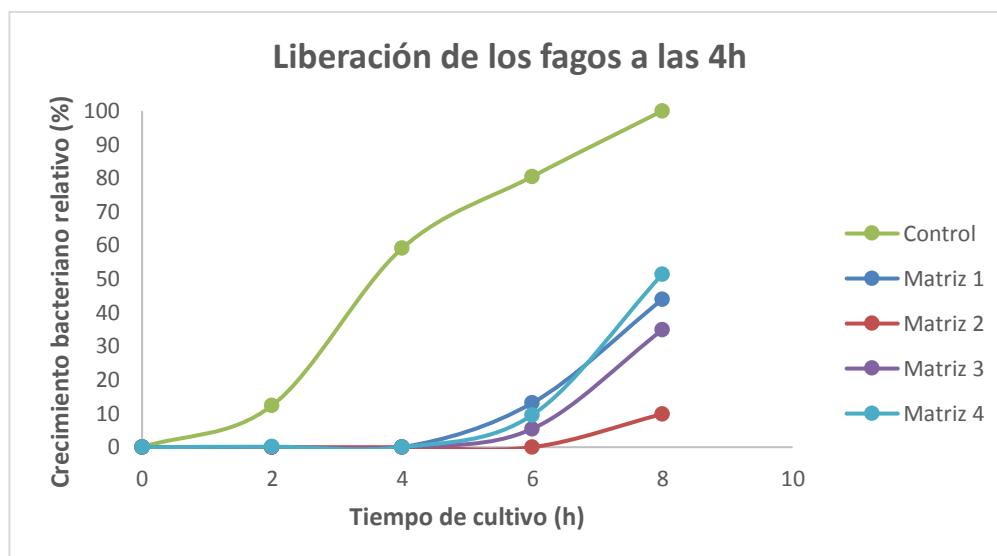


Figura 68. Liberación de los bacteriófagos a las 4 horas. Control de referencia, correspondiente al crecimiento de las bacterias *Staphylococcus Aureus* (curva verde), **Matriz 1** de fibras coaxiales sin fagos (curva azul estándar), **Matriz 2** de fibras coaxiales con fagos (curva roja), **Matriz 3** de fibras coaxiales sin fagos (curva lila), **Matriz 4** de fibras coaxiales con fagos (curva celeste).

Sin embargo, en la comparativa entre la matriz 4 (con fago) y 3, la curva celeste muestra una mayor actividad bacteriana que en la matriz sin los bacteriófagos, lo cual puede ser producto de un error en la lectura ya que el ensayo únicamente se realizó una vez por falta de tiempo. Además, como muestran los dos gráficos, solo se ha tenido en cuenta el tiempo de cultivo hasta las 8 horas debido a una contaminación en la que los micropocillos se han evaporado durante la toma de lecturas a partir de las 24 horas.

La [Figura 69](#), muestra la liberación de los fagos a las 8 horas, en la que se aprecia que ha habido un incremento del crecimiento bacteriano que en el caso de las matrices sin fagos (1 y 3) llega aproximadamente al 70% a las 8 horas de cultivo mientras que en las matrices con fagos (2 y 4) es aproximadamente del 50%. Este incremento de la población bacteriana respecto al mostrado en la [Figura 68](#) (40% aproximadamente para las matrices 1 y 3) y 10% para la matriz 2 y 50% para la matriz 4, puede producirse como consecuencia de que la población bacteriana haya superado a la de los bacteriófagos, los cuales no tienen como objetivo erradicar a las bacterias si no controlarlas regulando su crecimiento. Si comparamos ahora las matrices 3 y 4, se observa un menor crecimiento en las fibras coaxiales cargadas con los fagos, lo que sugiere lo comentado el anterior párrafo, que algún dato de lectura registrado en la liberación a las 4h era incorrecto pero no se pudo descartar porque no se realizaron más ensayos.

Como se ha comentado anteriormente, se debería realizar un estudio más prolongado del cultivo bacteriano para poder confirmar que a medida que avanza el tiempo de cultivo, el crecimiento bacteriano se ve estabilizado.

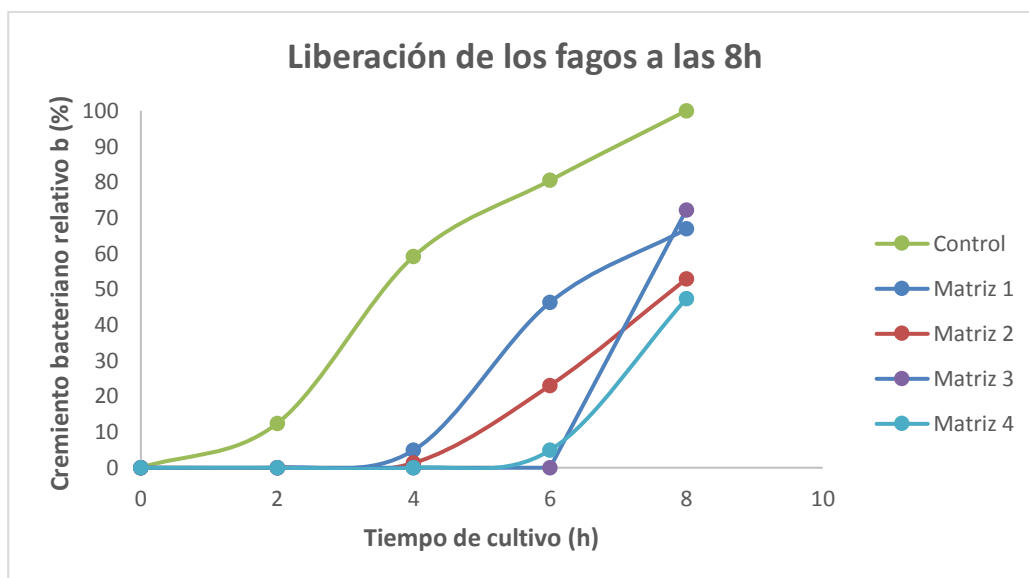


Figura 69. Liberación de los bacteriófagos a las 4 horas. Control de referencia, correspondiente al crecimiento de las bacterias *Staphylococcus Aureus* (curva verde), **Matriz 1** de fibras coaxiales sin fagos (curva azul estándar), **Matriz 2** de fibras coaxiales con fagos (curva roja), **Matriz 3** de fibras coaxiales sin fagos (curva lila), **Matriz 4** de fibras coaxiales con fagos (curva celeste).

11. Estudio del impacto ambiental

El objetivo de este apartado es identificar qué tipo de efectos puede tener el desarrollo de este TFG para el medio ambiente y la salud. Para ello se realizará una evaluación del peligro que conllevan algunas de las sustancias utilizadas durante la realización del proyecto. Para realizar esta evaluación se utilizará el sistema *REACH*, cuyo objetivo principal es mejorar la protección para la salud humana y el medio ambiente frente al riesgo que puede conllevar la fabricación, comercialización y uso de las sustancias y mezclas químicas.

El reglamento *REACH* (Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of chemicals), es el reglamento CE nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y que entró en vigor el 1 de junio de 2007. El reglamento CE nº 1272/2008 (CLP, Classification, Labelling and Packaging of substances and mixtures) tiene como principales objetivos determinar si una sustancia o mezcla presenta propiedades que deban ser clasificadas como peligrosas. Cuando estas propiedades estén identificadas y clasificada la sustancia o la mezcla en consecuencia, se debe comunicar los peligros detectados a través del etiquetado. La regulación CLP es la aplicación del sistema internacionalmente acordado GHS (*Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals*). Este sistema tiene como objetivo clasificar las sustancias por el peligro que entrañan y etiquetarlas mediante frases de peligrosidad aplicables al producto y pictogramas de peligro normalizados ([Tabla 23](#)). Las fichas de seguridad de los productos químicos utilizados en el laboratorio se muestran en el [Anexo II](#). En la [Tabla 24](#) se especifica para todos los productos utilizados en el TFG su pictograma y las frases H correspondientes. La explicación de las frases H se encuentran en la [Tabla 25](#).

Tabla 23. Pictogramas de peligrosidad del sistema GHS.

















Pictograma	Categoría	Descripción
	GHS01- Explosivo	Explosivos, autorreactivos, peróxidos orgánicos.
	GHS02- Inflamable	Sustancias inflamables, autorreactivos.
	GHS03- Comburente	Gases oxidantes.
	GHS04- Gas Presurizado	Gases bajo presión.
	GHS05- Corrosivo	Corrosivo a los metales, daño ocular.
	GHS06- Toxicidad	Toxicidad aguda.
	GS07- Irritante, cutáneo	Irritante, toxicidad aguda, efectos narcóticos.
	GS08- Peligroso para el cuerpo	Carcinógeno, mutagénico. Toxicidad reproductiva.
	GS09- Dañino para el medio ambiente	Toxicidad acuática aguda y/o crónica.

Tabla 24. Pictogramas de frases H de los productos utilizados en el TFG.

Producto	Pictograma	Frases H
PLA 2002D	n/a	
PEG	n/a	
HFIP	 	H290, H302, H314, H332
Cloroformo	 	H302, H315, H319, H331, H351, H361, H372
Acetona	 	H225, H319, H336, EUH066
Etanol		H225

Cloruro de sodio	n/a
Lipasa	n/a
Tampón fosfato Sörensen	n/A

Tabla 25. Definición de las frases H aplicables a los productos utilizados en el laboratorio.

Frase H	Explicación
H225	Líquido y vapores muy inflamables.
H290	Puede ser corrosivo para los metales.
H302	Nocivo en caso de ingestión.
H314	Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H331	Tóxico en caso de inhalación.
H322	Nocivo en caso de inhalación.
H336	Puede provocar somnolencia o vértigo.
H351	Puede provocar cáncer.
H361	Puede dañar al feto.
H372	Perjudica a determinados órganos por exposición prolongada o repetida.
EUH066	La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.

El reglamento CLP nº 1272/2008 deroga la directiva 67/548/CE, la cual se encargaba de la clasificación, el embalaje y el etiquetado de sustancias peligrosas (entrada en vigor desde 1967). Los polímeros biodegradables utilizados durante la elaboración del TFG, no están clasificados como sustancias peligrosas según esta normativa. Este hecho supone un bajo impacto ambiental debido a la biodegradabilidad que presentan los polímeros.

12. Evaluación económica

Para saber si el proyecto es viable o no, a parte de la evaluación ambiental que se ha comentado en el apartado anterior, también es importante saber el coste global del proyecto ya que si éste es muy elevado puede comportar a la no realización del proyecto.

El coste global del proyecto se ha determinado dividiendo éste coste en tres categorías diferenciadas: coste personal, coste material y coste de los equipos.

12.1. Costes de personal

Este coste se determina dividiendo el proyecto en las distintas fases en las que se lleva a cabo. Cada una de ellas lleva asociada un número de horas para realizarla y el precio varía en función de la dificultad que requieren.

Tabla 26. Costes de personal.

Fases	Cantidad (h)	Precio (€/h)	Total (€)
Estudio previo y documentación	150	10	1500
Experimentación	600	15	9000
Análisis de resultados	200	20	4000
TOTAL			14500

12.2. Coste de materiales

A continuación se presenta en la [Tabla 27](#) los costes de los materiales utilizados para la elaboración del proyecto de manera desglosada según la naturaleza del material: polímeros, disolventes y otros compuestos.

Tabla 27. Costes de los materiales.

Producto	Cantidad	Precio unitario	Coste (€)
Polímeros			
PLA 2002D	100g	75 €/kg	7,50
PEG 35000	500g	55 €/kg	27,50
Disolventes			

Agua destilada	3 L	0,5 €/L	1,50
Cloroformo	0,6 l	70 €/L	42,00
Acetona	0,3 L	51,5 €/L	15,45
Etanol	100 mL	60 €/L	6,00
1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol	20 mL	500 €/L	10,00
PBS	100 mL	12,20 €/L	1,22
Otros compuestos			
Cloruro de sodio	100 mg	34 €/kg	0,0034
Lipasa	1 g	490 €/kg	0,49
Tampón fosfato Sörensen	2 mL	69,50 €/100 mL	1,39
Bacteriófagos <i>Phagestaph</i> ™	20 mL	88€/20 mL	88,00
Cóctel de bacteriófagos	20 mL	88 €/20mL	88,00
TOTAL			289

12.3. Coste de equipos

El coste de los equipos se ha calculado teniendo en cuenta el número de usuarios, el período de amortización del equipo y la duración de la parte experimental de este TFG (10 meses). Las ecuaciones utilizadas para el cálculo de este coste se detallan a continuación:

$$\text{Coste} = \text{Anualidad} \times \frac{\text{Duración del proyecto}}{\text{Número de usuarios}} \quad (2)$$

$$\text{Anualidad} = \text{Precio} \times \frac{i \cdot (1 + i)^n}{(1 + i)^n - 1} \quad (3)$$

Dónde i es el interés anual, el cual es del 2%,

n es el período de amortización en años

La duración del TFG es de 10 meses

Tabla 28. Costes de los equipos.

Equipo	Precio (€)	Amortización (años)	Nº Usuarios	Coste (€)
Electrospinning	3000	5	7	76
Aguja Coaxial	10	1	2	4
Microscópio óptico	12000	15	8	97
Cámara digital MO	7800	5	8	172
Microscopio electrónico (SEM)	210000	15	15	908
Estufa-agitador	500	2	20	11
Espectrofotómetro de IR	24000	10	15	148
Estufa de vacío	5000	8	10	57
Balanza	600	10	20	3
Lector Elisa	3440	5	10	61
TOTAL				1537

12.4. Coste total del proyecto

El coste total del proyecto se determina a partir de la suma de los costes desglosados (coste de personal, coste de material y coste de equipos) y a este presupuesto se le añaden unos costes en concepto de gastos generales (gastos de climatización, luz y agua) que ascienden al 10% del presupuesto del proyecto y un coste operacional por haber trabajado en las instalaciones de la UPC del 21% del subtotal durante la realización del trabajo. A continuación en la [Tabla 29](#) se muestra el presupuesto del proyecto y los costes adicionales asociados a éste.

Tabla 29. Coste total del proyecto.

Concepto	Coste (€)
Personal	14500
Materiales	289
Equipos	1537
Subtotal	16326
Costes generales (10%)	163,26
Coste operacional (21%)	3428
IVA (21%)	383
TOTAL	20300,26

13. Conclusiones

Una vez finalizado el trabajo, las conclusiones que se derivan del análisis de los resultados obtenidos en este TFG son las siguientes:

1. Se ha conseguido determinar los parámetros operacionales idóneos para el electrohilado uniaxial del PEG (núcleo) y del PLA (cubierta). En el caso del PEG, se ha electrohilado utilizando de disolventes el Agua al 50% w/w y el Cloroformo al 25% w/w. Para la cubierta, los dos disolventes usados han sido el HFIP al 9% w/w y el Cloroformo al 7% w/w. Para todas las fibras uniaxiales obtenidas, se han mantenido los parámetros operacionales a un voltaje de 25 kV, un flujo entre 2,5-5 mL/h y la altura a 22,5 cm.
2. Se ha caracterizado mediante el microscopio electrónico de barrido (SEM) la morfología de las fibras uniaxiales y se ha determinado el diámetro promedio de estas, siendo de 1,435 μm para el PEG y de 2,99 μm en el caso del PLA.
3. Se han encapsulado dos tipos de bacteriófagos en las fibras uniaxiales de PEG, realizando un estudio cualitativo de la inhibición del crecimiento bacteriano en placas de agar. En este ensayo, se ha observado que el bacteriófago *Phagestaph*TM específico para la bacteria *Staphylococcus Aureus* mostraba actividad antibacteriana, mientras que el cóctel de bacteriófagos para la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* no ha resultado efectivo.
4. A partir del estudio de la degradación del ácido poliláctico al incorporarle la Lipasa, se puede concluir que las fibras han sido degradadas en los dos disolventes utilizados, HFIP y Cloroformo. El grado de degradación es mayor utilizando como disolvente el HFIP, pero su alto precio unitario (500 €/L), ha sido un factor clave para decantarse por el uso del Cloroformo como disolvente del PLA en la realización de las fibras coaxiales.
5. La obtención de fibras coaxiales compuestas por un núcleo de PEG en Agua y de una cubierta de PLA en Cloroformo ha sido inviable. Pese a la adición de cloruro de sodio en el núcleo para aumentar la conductividad del PEG y el uso de dos bombas de desplazamiento para regular los dos flujos, no se consiguieron mejoras en el electrohilado. Posteriormente, se ha conseguido optimizar la técnica del *electrospinning* para obtener cuatro matrices de fibras coaxiales a partir de disoluciones poliméricas de PEG en Cloroformo y de PLA en una mezcla Cloroformo/Acetona (2:1 v/v).
6. Se han caracterizado las cuatro matrices de fibras coaxiales antes y después de su inmersión en agua, observando en las micrografías obtenidas del SEM que la morfología de las fibras cambiaban, pasando de una forma tubular a fibras planas por el vaciado del PEG de su contenido. Las cuatro matrices han mostrado una distribución homogénea en el diámetro de las fibras, obteniéndose todas ellas en escala micrométrica. Además, se ha calculado el porcentaje de PEG removido y en todas las matrices el resultado ha sido superior al 90%.

En el caso de las fibras coaxiales añadiéndole Lipasa, se ha observado que el grado de degradación del ácido poliláctico era muy inferior a los resultados obtenidos en las fibras uniaxiales. Esto se debe a que el PLA se disolvía en una mezcla Cloroformo/Acetona (2:1 v/v) y la última reducía la actividad enzimática notablemente. Posibles soluciones a este problema serían incrementar el porcentaje de enzima de un 10 a un 30% w/w o suprimir de la mezcla de disolventes la acetona. Pese a esto, se ha conseguido electrohilar tanto el bacteriófago *Phagestaph*TM en el núcleo como la Lipasa en la cubierta sin observar defectos significativos en las fibras coaxiales respecto a sus análogas sin el fago ni la enzima.

7. Se ha analizado la composición química tanto de las fibras uniaxiales (PEG y PLA) como de las cuatro matrices de fibras coaxiales obtenidas mediante FTIR. Los resultados mostraban como después de la inmersión en agua de las fibras coaxiales, estos perdían picos característicos del PEG manteniendo los del PLA, característica distintiva de las fibras coaxiales.
8. Se han liberado los bacteriófagos de las matrices de fibras coaxiales observando su actividad antibacteriana durante 8 horas. Esta actividad fue demostrada cuantitativamente por la inhibición del crecimiento bacteriano en caldo de cultivo. Pese a que los resultados obtenidos muestran un menor crecimiento bacteriano relativo en las matrices que contenían los fagos, se tendría que hacer un estudio más prolongado del tiempo de cultivo para corroborar los resultados.

Bibliografía

- [1] E. A. Macgregor, P. A. Mirau, W. Lynn, and D. G. Baird, *Encyclopedia of physical science and technology: Polymers*. Elsevier Ltd, 2001.
- [2] J. Puiggalí, *Estructura y propiedades de los polímeros*. CPDA, ETSEIB, 2009.
- [3] G. et al. R. Mitchell, *Electrospinning principles, practice and possibilities*. The Royal Society of Chemistry, 2015.
- [4] J. W. Nicholson, *The Chemistry of Polymers*. The Royal Society of Chemistry, 2006.
- [5] C. E. Carraher Jr, *Polymer Chemistry*. CRC Press, 2007.
- [6] C. Bastioli, *Handbook of Biodegradable Polymers*. Rapra Technology Limited, 2005.
- [7] D. Platt, *Biodegradable polymers: market report*. Smithers Rapra Limited, 2006.
- [8] L. Yu, *Biodegradable Polymer Blends and Composites from Renewable Resources*. John Wiley & Sons, Inc, 2008.
- [9] L. T. Sin, A. R. Rahmat, and W. a. W. a. Rahman, *Poly(lactic Acid: PLA Biopolymer Technology and Applications*. Elsevier Ltd, 2012.
- [10] M. Ul-Islam, S. Khan, M. W. Ullah, and J. K. Park, "Structure, Chemistry and Pharmaceutical Applications of Biodegradable Polymers," *Handb. Polym. Pharm. Technol.*, vol. 3, pp. 517–540, 2015.
- [11] J. M. H. S. Zalipsky, *Poly(ethyleneglycol): chemistry and biological applications*, vol. 680. 1997.
- [12] J. Milton, *Poly(ethylene glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*. Springer US, 1992.
- [13] K. Kim, M. Yu, X. Zong, J. Chiu, D. Fang, Y. S. Seo, B. S. Hsiao, B. Chu, and M. Hadjiargyrou, "Control of degradation rate and hydrophilicity in electrospun non-woven poly(D,L-lactide) nanofiber scaffolds for biomedical applications," *Biomaterials*, vol. 24, no. 27, pp. 4977–4985, 2003.
- [14] D. Williams, "Enzymic hydrolysis of polylactic acid," *Sage Publ.*, pp. 1–3, 1981.
- [15] H. Fukuzaki, M. Yoshida, M. Asano, and M. Kumakura, "SYNTHESIS OF COPOLY(D,L-LACTIC ACID) WITH RELATIVELY LOW MOLECULAR WEIGHT AND IN VITRO DEGRADATION," *Eur. Polym. J.*, vol. 25, no. 10, pp. 1019–1026, 1989.
- [16] E. C. Keen, "A century of phage research: Bacteriophages and the shaping of modern biology," *BioEssays*, vol. 37, no. 1, pp. 6–9, 2015.
- [17] X. Wittebole, S. De Roock, and S. M. Opal, "A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens," *Virulence*, vol. 5, no. 1,

pp. 209–218, 2014.

- [18] L. J. del Valle, L. Franco, R. Katsarava, and J. Puiggali, “Electrospun biodegradable polymers loaded with bactericide agents,” *AIMS Mol. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 52–87, 2016.
- [19] J. Stanger, N. Tucker, and M. Staiger, *Electrospinning*, vol. 16. Smithers Rapra Technology, 2009.
- [20] S. Ramakrishna, K. Fujihara, and Z. Ma, *An introduction to electrospinning and nanofibers*, vol. 48, no. 10. World Scientific, 2005.
- [21] X. Zong, K. Kim, D. Fang, S. Ran, B. S. Hsiao, and B. Chu, “Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 43, no. 16, pp. 4403–4412, 2002.
- [22] C. Wang, H. S. Chien, C. H. Hsu, Y. C. Wang, C. T. Wang, and H. A. Lu, “Electrospinning of polyacrylonitrile solutions at elevated temperatures,” *Macromolecules*, vol. 40, no. 22, pp. 7973–7983, 2007.
- [23] M. M. Demir, I. Yilgor, E. Yilgor, and B. Erman, “Electrospinning of polyurethane fibers,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 43, no. 11, pp. 3303–3309, 2002.
- [24] C. L. Casper, J. S. Stephens, N. G. Tassi, D. B. Chase, and J. F. Rabolt, “Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: Effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process,” *Macromolecules*, vol. 37, no. 2, pp. 573–578, 2004.
- [25] P. K. Baumgarten, “Electrostatic spinning of acrylic microfibers,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 36, no. 1, pp. 71–79, 1971.
- [26] X. Wang and T. Lin, *Needleless Electrospinning of Nanofibers: Technology and Applications*. Pan Stanford Publishing, 2013.
- [27] M.-S. Khil, D.-I. Cha, H.-Y. Kim, I.-S. Kim, and N. Bhattarai, “Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 67B, no. 2, pp. 675–679, 2003.
- [28] Y. el Har-el, J. A. Gerstenhaber, R. Brodsky, R. B. Huneke, and P. I. Lelkes, “Electrospun soy protein scaffolds as wound dressings: Enhanced reepithelialization in a porcine model of wound healing,” *Wound Med.*, vol. 5, pp. 9–15, 2014.
- [29] C. L. He, Z. M. Huang, and X. J. Han, “Fabrication of drug-loaded electrospun aligned fibrous threads for suture applications,” *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 89, no. 1, pp. 80–95, 2009.
- [30] S. S. Choi, Y. S. Lee, C. W. Joo, S. G. Lee, J. K. Park, and K. S. Han, “Electrospun PVDF nanofiber web as polymer electrolyte or separator,” *Electrochim. Acta*, vol. 50, no. 2–3 SPEC. ISS., pp. 339–343, 2004.
- [31] H. Tsutsumi, “Tsutsumi Lab. Polymer & Electrochemistry,” 2015. [Online]. Available: http://ds0n.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~tsutsulb/research_Eng.html. [Accessed: 27-Mar-2018].
- [32] S. Cavaliere, *Electrospinning for advanced energy and environmental applications*. CRC Press,

2015.

- [33] U. E. Spichiger-Keller, *Chemical Sensors and Biosensors for Medical and Biological Applications*. WILEY-VCH Verlag GmbH, 1998.
- [34] Z. Sun, E. Zussman, A. L. Yarin, J. H. Wendorff, and A. Greiner, "Compound Core-Shell Polymer Nanofibers by Co-Electrospinning," *Adv. Mater.*, vol. 15, no. 22, pp. 1929–1932, 2003.
- [35] L. Yan, S. Si, Y. Chen, T. Yuan, H. Fan, Y. Yao, and Q. Zhang, "Electrospun in-situ hybrid polyurethane/nano-TiO₂ as wound dressings," *Fibers Polym.*, vol. 12, no. 2, pp. 207–213, 2011.
- [36] P. McClellan and W. J. Landis, "Recent Applications of Coaxial and Emulsion Electrospinning Methods in the Field of Tissue Engineering," *Biores. Open Access*, vol. 5, no. 1, pp. 212–227, 2016.
- [37] A. L. Yarin, "Coaxial electrospinning and emulsion electrospinning of core-shell fibers," *Polym. Adv. Technol.*, vol. 22, no. 3, pp. 310–317, 2011.
- [38] N. Rodrigo, "Incorporación de bacteriófagos en micro / nanofibras de polietilenglicol y ácido poliláctico mediante electrospinning," Universitat Politècnica de Catalunya, 2015.
- [39] Z. Kamal, P. Yedavalli, M. V. Deshmukh, and N. M. Rao, "Lipase in aqueous-polar organic solvents: Activity, structure, and stability," *Protein Sci.*, vol. 22, no. 7, pp. 904–915, 2013.

Anexo I

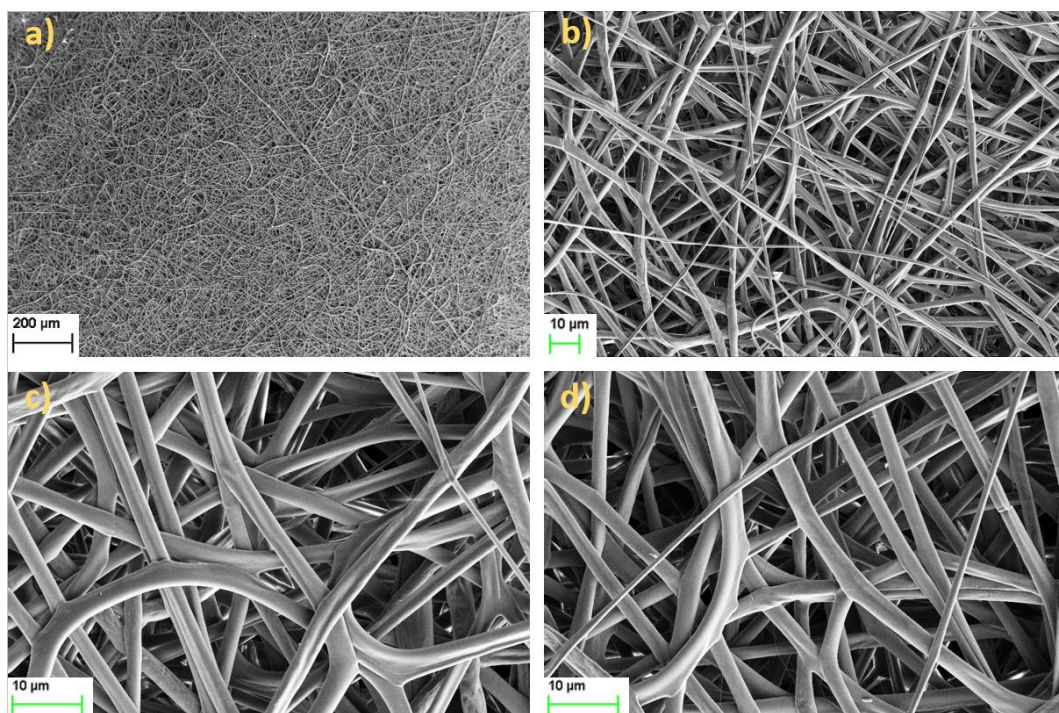


Figura 70. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLA de la Matriz 1 a 2,5 mL/h. a) Vista a 100 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

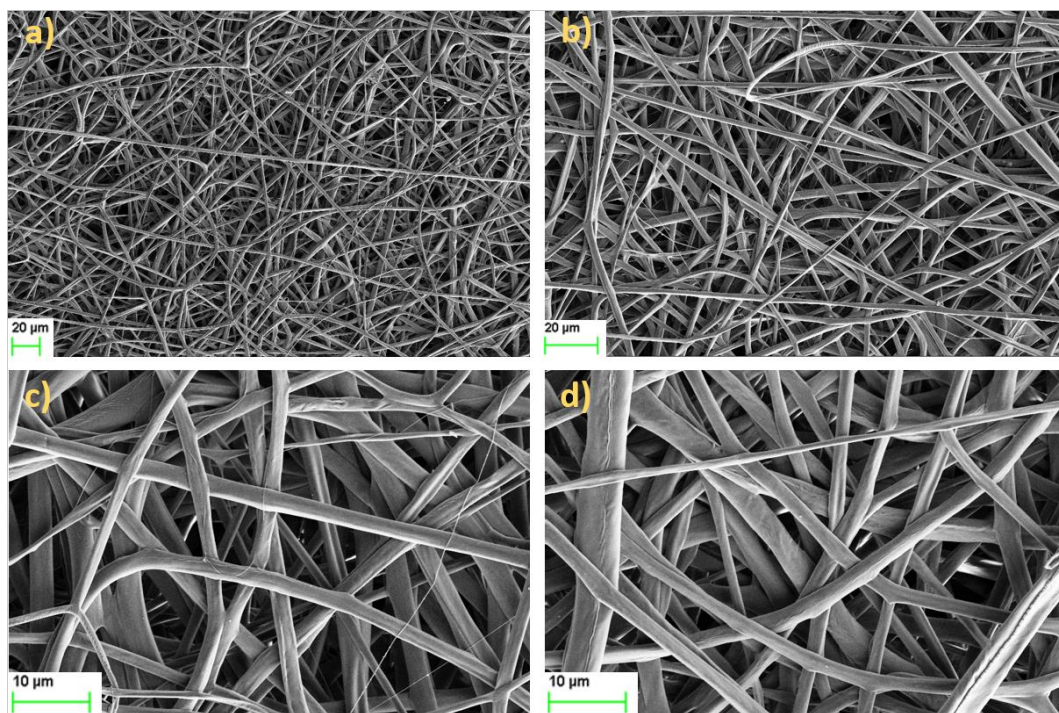


Figura 71. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLA de la Matriz 2 a 5 mL/h. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

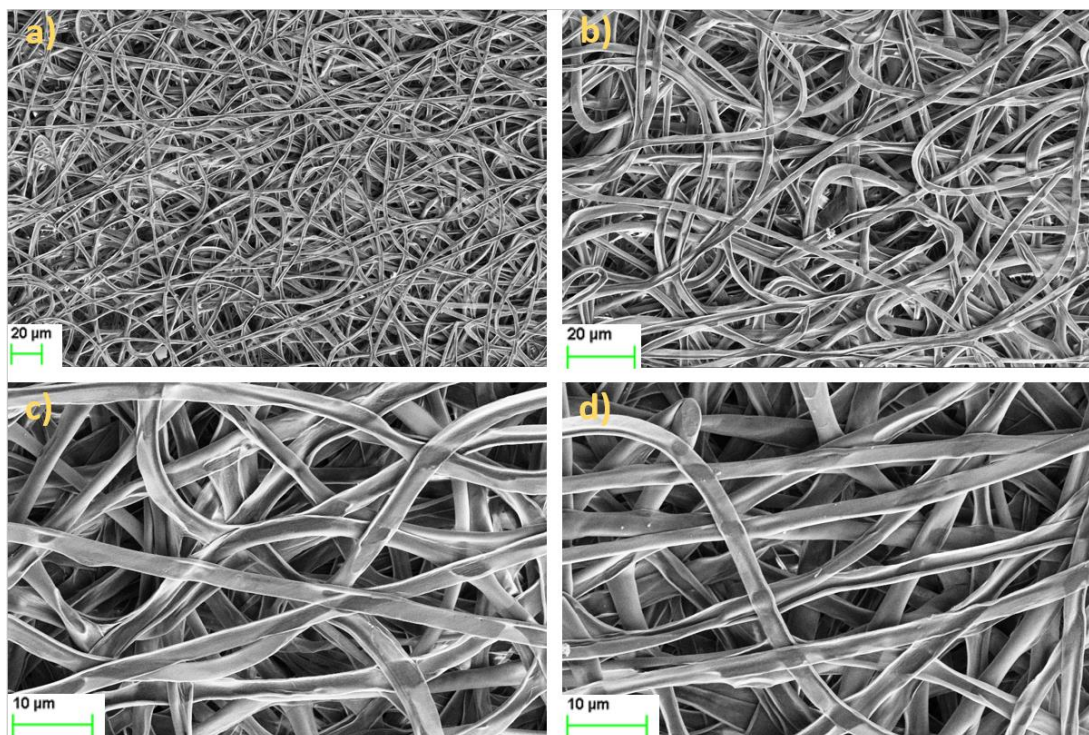


Figura 72. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 1 después de la inmersión a 2,5 mL/h. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

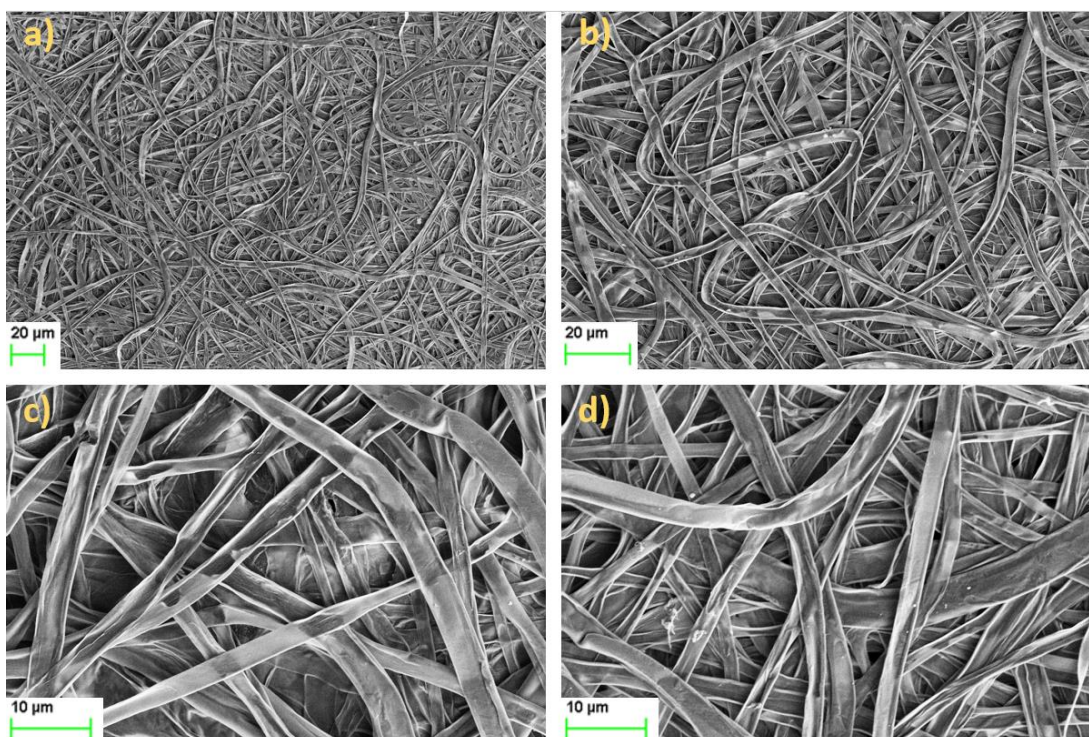


Figura 73. Morfología de las fibras coaxiales PEGc/PLAs de la Matriz 2 después de la inmersión a 5 mL/h. a) Vista a 500 aumentos, b) Vista a 1000 aumentos, c) Vista a 2500 aumentos, d) Vista a 2500 aumentos.

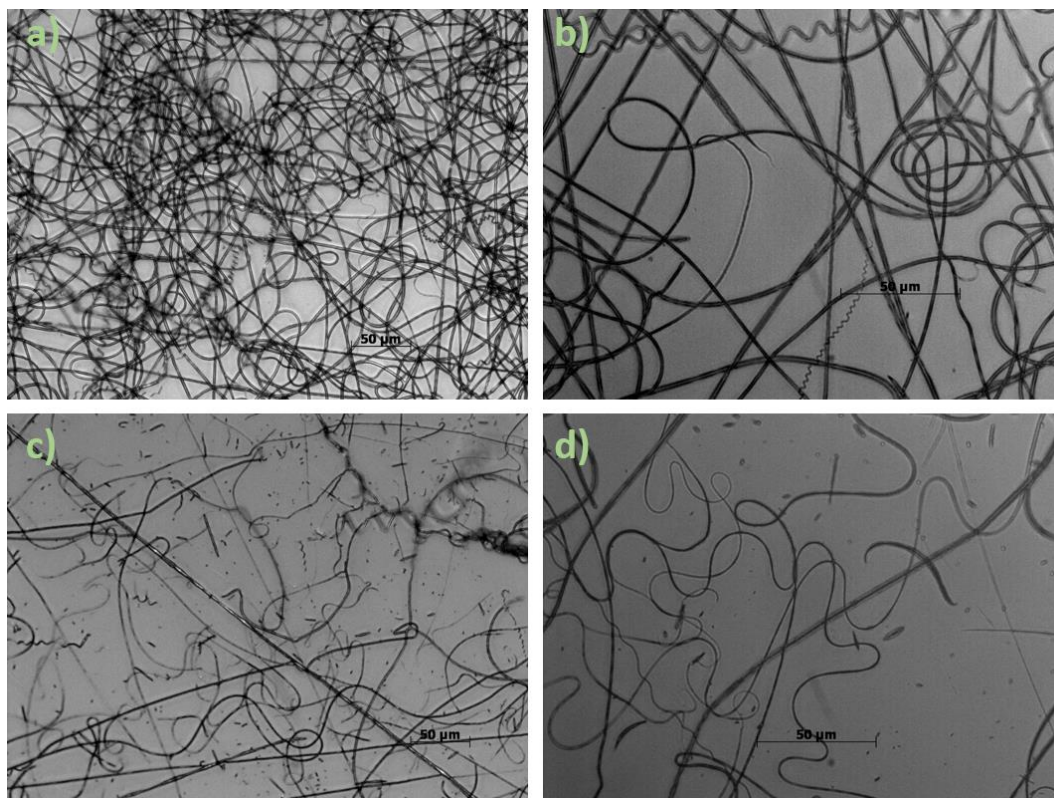


Figura 74. Imágenes de M.O de muestras que no han pasado la criba de PEG en Agua al 50% w/w.

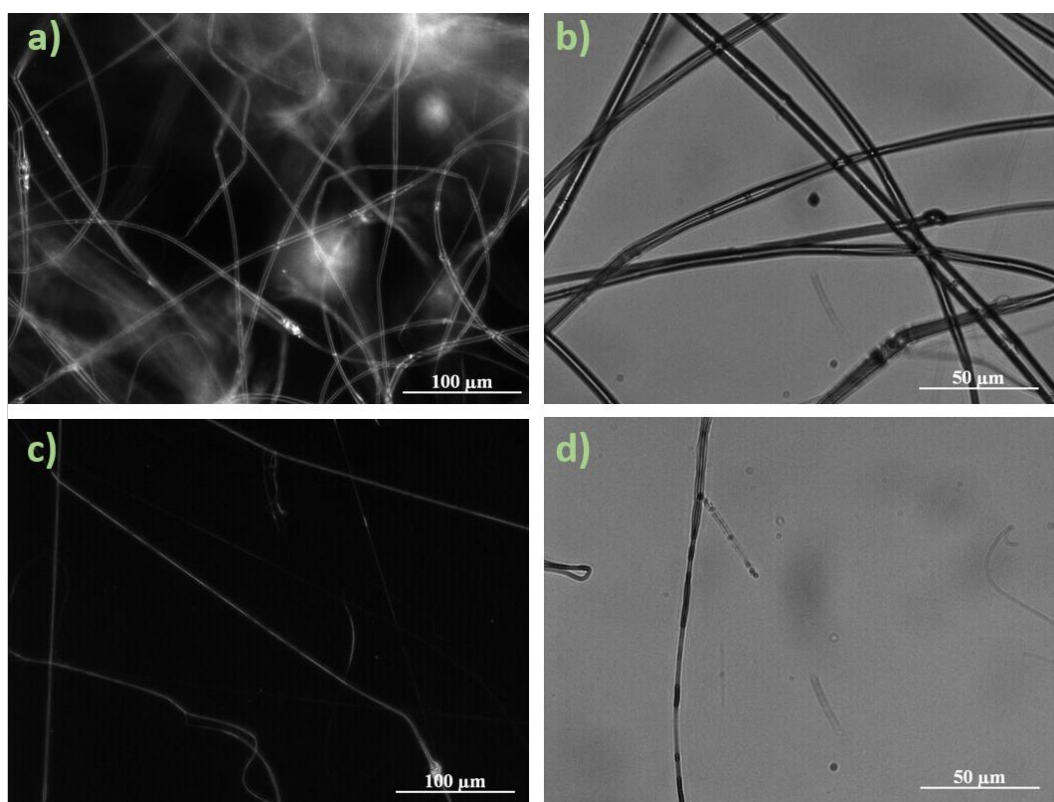









Figura 75. Imágenes de M.O de muestras que no han pasado la criba de PLA en Cloroformo añadiéndole Lipasa.

Anexo II: Fichas de seguridad

Fichas Internacionales de Seguridad Química

ACETONA			ICSC: 0087 Abril 2009
CAS: RTECS: NU: CE Índice Anexo I: CE / EINECS:	67-64-1 AL3150000 1090 606-001-00-8 200-662-2	2-Propanona Dimetil cetona Metil cetona C_3H_6O / $CH_3-CO-CH_3$ Masa molecular: 58.1	
TIPO DE PELIGRO / EXPOSICIÓN	PELIGROS AGUDOS / SÍNTOMAS	PREVENCIÓN	PRIMEROS AUXILIOS / LUCHA CONTRA INCENDIOS
INCENDIO	Altamente inflamable.	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar.	Polvo, espuma resistente al alcohol, agua en grandes cantidades o dióxido de carbono.
EXPLOSIÓN	Las mezclas vapor/aire son explosivas. El calentamiento intenso puede producir aumento de la presión con riesgo de estallido.	Sistema cerrado, ventilación, equipo eléctrico y de alumbrado a prueba de explosión. NO utilizar aire comprimido para llenar, vaciar o manipular. Utilicéense herramientas manuales no generadoras de chispas.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua.
EXPOSICIÓN			
Inhalación	Dolor de garganta. Tos. Confusión mental. Dolor de cabeza. Vértigo. Somnolencia. Pérdida del conocimiento.	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio y reposo. Proporcionar asistencia médica.
Piel	Piel seca.	Guantes de protección.	Quitar las ropas contaminadas. Aclarar y lavar la piel con agua y jabón.
Ojos	Enrojecimiento. Dolor. Visión borrosa.	Gafas de protección de seguridad.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad). Proporcionar asistencia médica.
Ingestión	Náuseas. Vómitos. (Ver Inhalación).	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo. Lavarse las manos antes de comer.	Enjuagar la boca. Proporcionar asistencia médica.
DERRAMES Y FUGAS		ENVASADO Y ETIQUETADO	
Eliminar toda fuente de ignición. Ventilar. Protección personal: filtro para gases y vapores orgánicos de bajo punto de ebullición adaptado a la concentración de la sustancia en el aire. NO verterlo en el alcantarillado. Recoger el líquido procedente de la fuga en recipientes precintables. Absorber el líquido residual en arena o absorbente inerte y trasladarlo a un lugar seguro. Eliminarlo a continuación con agua abundante.		Clasificación UE Símbolo: F, Xi R: 11-36-66-67 S: (2)-9-16-26 Clasificación NU Clasificación de Peligros NU: 3 Grupo de Envasado NU: II Clasificación GHS Peligro Líquido y vapores muy inflamables. Provoca irritación ocular.	
RESPUESTA DE EMERGENCIA		ALMACENAMIENTO	
Código NFPA: H1; F3; R0		A prueba de incendio. Separado de: Ver Peligros Químicos. Almacenar en un área sin acceso a desagües o alcantarillas.	
Preparada en el Contexto de Cooperación entre el IPCS y la Comisión Europea © CE, IPCS, 2009			
<div><div>IPCS International Programme on Chemical Safety</div><div></div></div>			

VÉASE INFORMACIÓN IMPORTANTE AL DORSO



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH
Escola d'Enginyeria de Barcelona Est

Fichas Internacionales de Seguridad Química

ACETONA		ICSC: 0087
DATOS IMPORTANTES		
ESTADO FÍSICO; ASPECTO Líquido incoloro de olor característico.	VÍAS DE EXPOSICIÓN La sustancia se puede absorber por inhalación.	
PELIGROS FÍSICOS El vapor es más denso que el aire y puede extenderse a ras del suelo. Posible ignición en punto distante.	RIESGO DE INHALACIÓN Por evaporación de esta sustancia a 20°C se puede alcanzar bastante rápidamente una concentración nociva en el aire, sin embargo, más rápidamente por pulverización o cuando se dispersa.	
PELIGROS QUÍMICOS La sustancia puede formar peróxidos explosivos en contacto con oxidantes fuertes tales como ácido acético, ácido nítrico y peróxido de hidrógeno. Reacciona con cloroformo y bromoformo en medio básico, originando peligro de incendio y explosión. Ataca a los plásticos.	EFFECTOS DE EXPOSICIÓN DE CORTA DURACIÓN La sustancia irrita los ojos y el tracto respiratorio. La exposición a altas concentraciones puede producir disminución del estado de alerta.	
LÍMITES DE EXPOSICIÓN TLV: 500 ppm como TWA, 750 ppm como STEL. A4 (no clasificable como cancerígeno humano). BEI establecido (ACGIH 2009). LEP UE: 500 ppm, 1210 mg/m³ como TWA (EU 2000). Recomendación del SCOEL disponible.	EFFECTOS DE EXPOSICIÓN PROLONGADA O REPETIDA El líquido desengrasa la piel. El contacto repetido puede producir piel seca y agrietada.	
PROPIEDADES FÍSICAS		
Punto de ebullición: 56°C Punto de fusión: -95°C Densidad relativa (agua = 1): 0.8 Solubilidad en agua: miscible. Presión de vapor, kPa a 20°C: 24 Densidad relativa de vapor (aire = 1): 2.0	Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1.2 Punto de inflamación: -18°C c.c. Temperatura de autoignición: 465°C Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 2.2-13 Coeficiente de reparto octanol/agua como log Pow: -0.24 Viscosidad, mm²/s a 40 °C: 0.34	
DATOS AMBIENTALES		
NOTAS		
El consumo de bebidas alcohólicas aumenta el efecto nocivo.		
INFORMACIÓN ADICIONAL		
Límites de Exposición Profesional (INSHT 2011): VLA-ED: 500 ppm; 1210 mg/m³ VLB: 50 mg/l en orina. Nota I.		
NOTA LEGAL		
Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.		
© IPCS, CE 2009		

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.6 Fecha de revisión 07.12.2017

Fecha de impresión 22.04.2018

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Cloroformo

Referencia : C2432

Marca : Sigma-Aldrich

No. Índice : 602-006-00-4

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 67-66-3

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008

Toxicidad aguda, Oral (Categoría 4), H302

Toxicidad aguda, Inhalación (Categoría 3), H331

Irritación cutánea (Categoría 2), H315

Irritación ocular (Categoría 2), H319

Carcinogenicidad (Categoría 2), H351

Toxicidad para la reproducción (Categoría 2), H361d

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única (Categoría 3), Sistema nervioso central, H336

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas (Categoría 1), H372

Para el texto íntegro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta

Etiquetado de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008

Pictograma



Sigma-Aldrich - C2432

Página 1 de 9

Palabra de advertencia	Peligro
Indicación(es) de peligro	
H302	Nocivo en caso de ingestión.
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H331	Tóxico en caso de inhalación.
H336	Puede provocar somnolencia o vértigo.
H351	Se sospecha que provoca cáncer.
H361d	Se sospecha que daña al feto.
H372	Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.
Declaración(es) de prudencia	
P261	Evitar respirar los vapores.
P281	Utilizar el equipo de protección individual obligatorio.
P305 + P351 + P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
P311	Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.
Declaración Suplementaria del Peligro	ninguno(a)

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3. Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos	: TrichloromethaneMethylidyne trichloride
Formula	: CHCl ₃
Peso molecular	: 119,38 g/mol
No. CAS	: 67-66-3
No. CE	: 200-663-8
No. Índice	: 602-006-00-4

Ingredientes peligrosos de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1272/2008

Componente	Clasificación	Concentración
Chloroform		
No. CAS	67-66-3	Acute Tox. 4; Acute Tox. 3; Skin Irrit. 2; Eye Irrit. 2; Carc. 2; Repr. 2; STOT SE 3; STOT RE 1; H302, H331, H315, H319, H351, H361d, H336, H372 Límites de concentración: 20 %: STOT SE 3, H336;
No. CE	200-663-8	
No. Índice	602-006-00-4	
		<= 100 %

Para el texto integro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

SECCIÓN 4. Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Llevar al afectado en seguida a un hospital. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

Por ingestión

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Usar protección respiratoria. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evacuar el personal a zonas seguras. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Empapar con material absorbente inerte y eliminar como un desecho especial. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evitar la inhalación de vapor o neblina. Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado. Los contenedores que se abren deben volverse a cerrar cuidadosamente y mantener en posición vertical para evitar pérdidas.

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual**8.1 Parámetros de control****Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.**

Componente	No. CAS	ValorForma de exposición	Parámetros de control	Base
Chloroform	67-66-3	TWA	2 ppm 10 mg/m ³	Directiva 2000/39/CE de la Comisión por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos
	Observaciones	Identifica la posibilidad de una absorción importante a través de la piel Indicativo		
		VLA-ED	2 ppm 10 mg/m ³	Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos - Tabla 1: Límites Ambientales de exposición profesional
		Vía dérmica Esta sustancia tiene establecidas restricciones a la fabricación, la comercialización o el uso en los términos especificados en el 'Reglamento CE 1907/2006 sobre Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de sustancias y preparados químicos' (REACH) de 18 de diciembre de 2006 (DOUE L 369 de 30 de diciembre de 2006). Las restricciones de una sustancia pueden aplicarse a todos los usos o sólo a usos concretos. El anexo XVII del Reglamento REACH contiene la lista de todas las sustancias restringidas y especifica los usos que se han restringido. Agente químico para el que la U.E. estableció en su día un valor límite indicativo. Todos estos agentes químicos figuran al menos en una de las directivas de valores límite indicativos publicadas hasta ahora (ver Anexo C. Bibliografía). Los estados miembros disponen de un tiempo fijado en dichas directivas para su transposición a los valores límites de cada país miembro. Una vez adoptados, estos valores tienen la misma validez que el resto de los valores adoptados por el país.		

8.2 Controles de la exposición**Controles técnicos apropiados**

Evitar el contacto con la piel, ojos y ropa. Lávense las manos antes de los descansos e inmediatamente después de manipular la sustancia.

Protección personal**Protección de los ojos/ la cara**

Caretas de protección y gafas de seguridad. Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto

de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Sumerción

Material: Caucho fluorado

espesura mínima de capa: 0,7 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Vitoject® (KCL 890 / Aldrich Z677698, Talla M)

Salpicaduras

Material: Caucho fluorado

espesura mínima de capa: 0,7 mm

tiempo de penetración: 480 min

Material probado: Vitoject® (KCL 890 / Aldrich Z677698, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail

sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Traje de protección completo contra productos químicos, El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores toda la cara con combinación multi-proposito (EEUU) o tipo AXBEK (EN 1438 ingeniería. Si el respirador es la única protección, usar un respirador s Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. La descarga en el ambiente debe ser evitada.

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|--|--|
| a) Aspecto | Forma: líquido, claro
Color: incoloro |
| b) Olor | Sin datos disponibles |
| c) Umbral olfativo | Sin datos disponibles |
| d) pH | Sin datos disponibles |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación | Punto/intervalo de fusión: -63 °C |
| f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición | 60,5 - 61,5 °C |
| g) Punto de inflamación | Sin datos disponibles |
| h) Tasa de evaporación | Sin datos disponibles |
| i) Inflamabilidad (sólido, gas) | Sin datos disponibles |

Sigma-Aldrich - C2432

Página 5 de 9

j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	213,3 hPa a 20,0 °C
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	log Pow: 1,97
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Tensión superficial	27,1 mN/m a 20,0 °C
---------------------	---------------------

SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

Contiene el estabilizador(es) siguiente(s):

2-Methyl-2-butene ($\geq 0,001$ - $\leq 0,015$ %)

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes, Bases fuertes, Magnesio, Óxidos de sodio/sodio, Litio

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Productos de descomposición peligrosos formados en condiciones de incendio. - Óxidos de carbono, Gas cloruro de hidrógeno

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles

En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11. Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

DL50 Oral - Rata - macho - 908 mg/kg

(Directrices de ensayo 401 del OECD)

Observaciones: Conducta: Cambios en la actividad motora (ensayo específico) Conducta: Ataxia

Pulmones, torax o Respiración: Estimulación respiratoria

LOEC Inhalación - Rata - macho - 6 h - 500 ppm

Observaciones: Clasificado de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008, Anexo VI (Tabla 3.1/3.2)

DL50 Cutáneo - Conejo - > 20.000 mg/kg
Observaciones: (RTECS)

Corrosión o irritación cutáneas

Piel - Conejo
Resultado: Irrita la piel. - 24 h
Observaciones: (ECHA)

Lesiones o irritación ocular graves

Ojos - Conejo
Resultado: Irrita los ojos.
Observaciones: (ECHA)

Sensibilización respiratoria o cutánea

Test de sensibilización: - Conejillo de indias
Resultado: negativo
(Prueba de Maximización)
Observaciones: (ECHA)

Mutagenicidad en células germinales

Prueba de Ames
Salmonella typhimurium
Resultado: negativo

ensayo de mutación reversible
Escherichia coli
Resultado: negativo
(ECHA)

Directrices de ensayo 474 del OECD
Rata - machos y hembras - Médula
Resultado: negativo

Directrices de ensayo 486 del OECD
Rata - macho - otros tipos de células
Resultado: negativo

Carcinogenicidad

Carcinogenicidad - Rata - Oral
Tumorigeno: Cancerígeno según los criterios RTECS Leucemia

Se sospecha que provoca cáncer.

IARC: 2B - Grupo 2B: Posiblemente cancerígeno para los humanos (Chloroform)

Toxicidad para la reproducción

Se sospecha que daña al feto.

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Puede provocar somnolencia o vértigo.

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

La sustancia o mezcla se clasifica como tóxica específica de órganos diana, exposición repetida, categoría 1. - Hígado, Riñón

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: FS9100000

Vómitos, Trastornos gastrointestinales, La exposición al alcohol, o su consumo, puede incrementar los efectos tóxicos.

SECCIÓN 12. Información ecológica**12.1 Toxicidad**

Toxicidad para los peces	Ensayo dinámico CL50 - Danio rerio (pez zebra) - 121 mg/l - 48 h (Directrices de ensayo 203 del OECD)
	Ensayo estático CL50 - Pimephales promelas (Piscardo de cabeza gorda) - 103 - 171 mg/l - 96 h Observaciones: (ECHA)
	Ensayo dinámico CL50 - Oncorhynchus mykiss (Trucha irisada) - 18,2 mg/l - 96 h Observaciones: (ECHA)
	Ensayo dinámico CL50 - Micropterus dolomieu - 51 mg/l - 96 h Observaciones: (ECHA)
Toxicidad para las dafnias y otros invertebrados acuáticos	Ensayo estático CE50 - Daphnia magna (Pulga de mar grande) - 79 mg/l - 48 h Observaciones: (ECHA)
Toxicidad para las algas	Ensayo estático CE50r - Chlamydomonas reinhardtii (alga verde) - 13,3 mg/l - 72 h Observaciones: (ECHA)

12.2 Persistencia y degradabilidad

Biodegradabilidad	aeróbico - Tiempo de exposición 14 d Resultado: 0 % - No es fácilmente biodegradable. (OECD TG 301 C)
-------------------	---

12.3 Potencial de bioacumulación

Bioacumulación	Cyprinus carpio (Carpa) - 42 d a 25 °C - 0,1 mg/l
	Factor de bioconcentración (FBC): 4,1 - 13 (Directrices de ensayo 305 del OECD)
	Cyprinus carpio (Carpa) - 42 d a 25 °C - 1 mg/l
	Factor de bioconcentración (FBC): 1,4 - 4,7 (Directrices de ensayo 305 del OECD)

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Nocivo para los organismos acuáticos.

SECCIÓN 13. Consideraciones relativas a la eliminación**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14. Información relativa al transporte

14.1 Número ONU		
ADR/RID: 1888	IMDG: 1888	IATA: 1888
14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas		
ADR/RID: CLOROFORMO		
IMDG: CHLOROFORM		
IATA: Chloroform		
14.3 Clase(s) de peligro para el transporte		
ADR/RID: 6.1	IMDG: 6.1	IATA: 6.1
14.4 Grupo de embalaje		
ADR/RID: III	IMDG: III	IATA: III
14.5 Peligros para el medio ambiente		
ADR/RID: no	IMDG Marine pollutant: no	IATA: no
14.6 Precauciones particulares para los usuarios		
Sin datos disponibles		

SECCIÓN 15. Información reglamentaria

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

Autorizaciones y / o restricciones de uso

REACH - Restricciones a la fabricación, comercialización y uso de determinadas sustancias, preparados y artículos peligrosos (Anexo XVII)

: Chloroform

Reglamento (CE) n o 649/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a la exportación e importación de productos químicos peligrosos

: Chloroform

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16. Otra información

Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.

H302	Nocivo en caso de ingestión.
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
H331	Tóxico en caso de inhalación.
H336	Puede provocar somnolencia o vértigo.
H351	Se sospecha que provoca cáncer.
H361d	Se sospecha que daña al feto.
H372	Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

Otros datos

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo al Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.8 Fecha de revisión 02.10.2017

Fecha de impresión 22.04.2018

SECCIÓN 1. Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Cloruro de sodio

Referencia : S7653

Marca : Sigma-Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 7647-14-5

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Quimica, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Aptdo. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2. Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3. Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Formula : NaCl

Peso molecular : 58,44 g/mol

No. CAS : 7647-14-5

No. CE : 231-598-3

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4. Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Por ingestión

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5. Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6. Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Evitar respirar el polvo. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7. Manipulación y almacenamiento
7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese la formación de polvo y aerosoles.
Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.
Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8. Controles de exposición/protección individual
8.1 Parámetros de control**Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.**

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición**Controles técnicos apropiados**

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad.
Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal**Protección de los ojos/ la cara**

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Sumerción

Material: Caucho nitrilo
espesura mínima de capa: 0,11 mm
tiempo de penetración: 480 min
Material probado: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

Salpicaduras

Material: Caucho nitrilo
espesura mínima de capa: 0,11 mm
tiempo de penetración: 480 min
Material probado: Dermatrill® (KCL 740 / Aldrich Z677272, Talla M)

origen de datos: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, Teléfono +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, Método de prueba: EN374

Si es utilizado en solución, o mezclado con otras sustancias, y bajo condiciones diferentes de la EN 374, ponerse en contacto con el proveedor de los guantes aprobados CE. Esta recomendación es meramente aconsejable y deberá ser evaluada por un responsable de seguridad e higiene industrial familiarizado con la situación específica de uso previsto por nuestros clientes. No debe interpretarse como una aprobación de oferta para cualquier escenario de uso específico.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección

debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9. Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: sólido Color: incoloro
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	7
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Punto/intervalo de fusión: 801 °C
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	1.413 °C
g) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k) Presión de vapor	1,33 hPa a 865 °C
l) Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m) Densidad relativa	2,1650 g/cm3
n) Solubilidad en agua	358 g/l a 20 °C - soluble
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p) Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q) Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r) Viscosidad	Sin datos disponibles
s) Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t) Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Sin datos disponibles

Sigma-Aldrich - S7653

Página 4 de 7

SECCIÓN 10. Estabilidad y reactividad**10.1 Reactividad**

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Productos de descomposición peligrosos formados en condiciones de incendio. - Gas cloruro de hidrógeno, Oxidos de sodio

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles

En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11. Información toxicológica**11.1 Información sobre los efectos toxicológicos****Toxicidad aguda**

DL50 Oral - Rata - 3.550 mg/kg

CL50 Inhalación - Rata - 1 h - > 42.000 mg/m³

DL50 Cutáneo - Conejo - > 10.000 mg/kg

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: VZ4725000

Vómitos, Diarrea, Una deshidratación y una congestión pueden ocurrir en los órganos internos. Las soluciones de sal hipertónicas pueden producir reacciones inflamatorias en el aparato gastrointestinal.,

Sigma-Aldrich - S7653

Pagina 5 de 7

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12. Información ecológica

12.1 Toxicidad

Toxicidad para los peces	CL50 - Lepomis macrochirus - 5.840 mg/l - 96 h
Toxicidad para las dafnias y otros invertebrados acuáticos	NOEC - Daphnia - 1.500 mg/l - 7 d
	CL50 - Daphnia magna (Pulga de mar grande) - 1.661 mg/l - 48 h

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13. Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14. Información relativa al transporte

14.1 Número ONU

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa
IMDG: Not dangerous goods
IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.4 Grupo de embalaje

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

14.6 Precauciones particulares para los usuarios

Sin datos disponibles

Sigma-Aldrich - S7653

Página 6 de 7

SECCIÓN 15. Información reglamentaria**15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla**

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16. Otra información**Otros datos**

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

SAFETY DATA SHEET

Version 4.6

Revision Date 16.04.2013

Print Date 15.09.2013

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE/MIXTURE AND OF THE COMPANY/UNDERTAKING

1.1 Product identifiers

Product name : Ethanol

Product Number : 459844
Brand : Sigma-Aldrich

1.2 Other means of identification

Ethyl alcohol

1.3 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Identified uses : Laboratory chemicals, Manufacture of substances

1.4 Details of the supplier of the safety data sheet

Company : Sigma-Aldrich Pty. Ltd.
12 Anella Avenue
CASTLE HILL NSW 2154
AUSTRALIA
Telephone : +61 2 9841 0555 (1800 800 097)
Fax : +61 2 9841 0500 (1800 800 096)

1.5 Emergency telephone number

Emergency Phone # : +44 (0)8701 906777 (1800 448 465)

2. HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 GHS Classification

Flammable liquids (Category 2)

2.2 GHS Label elements, including precautionary statements

Pictogram



Signal word : Danger

Hazard statement(s)
H225 : Highly flammable liquid and vapour.

Precautionary statement(s)

Prevention
P210 : Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. - No smoking.
P233 : Keep container tightly closed.
P240 : Ground/bond container and receiving equipment.
P241 : Use explosion-proof electrical/ ventilating/ lighting/ equipment.
P242 : Use only non-sparking tools.
P243 : Take precautionary measures against static discharge.

Sigma-Aldrich - 459844

Page 1 of 8



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH
Escola d'Enginyeria de Barcelona Est

P280	Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection.
Response P303 + P361 + P353	IF ON SKIN (or hair): Remove/ Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/ shower.
P370 + P378	In case of fire: Use dry sand, dry chemical or alcohol-resistant foam for extinction.
Storage P403 + P235	Store in a well-ventilated place. Keep cool.
Disposal P501	Dispose of contents/ container to an approved waste disposal plant.

2.3 Other hazards - none

3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS

3.1 Substances

Synonyms	: Ethyl alcohol
Formula	: C ₂ H ₆ O
Molecular Weight	: 46.07 g/mol
CAS-No.	: 64-17-5
EC-No.	: 200-578-6
Index-No.	: 603-002-00-5

Component	Classification	Concentration
Ethanol	Flam. Liq. 2; H225	-

For the full text of the H-Statements mentioned in this Section, see Section 16.

4. FIRST AID MEASURES

4.1 Description of first aid measures

General advice

Consult a physician. Show this safety data sheet to the doctor in attendance.

If inhaled

If breathed in, move person into fresh air. If not breathing, give artificial respiration. Consult a physician.

In case of skin contact

Wash off with soap and plenty of water. Consult a physician.

In case of eye contact

Rinse thoroughly with plenty of water for at least 15 minutes and consult a physician.

If swallowed

Do NOT induce vomiting. Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth with water. Consult a physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

The most important known symptoms and effects are described in the labelling (see section 2.2) and/or in section 11

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

no data available

5. FIREFIGHTING MEASURES

5.1 Extinguishing media

Suitable extinguishing media

Use water spray, alcohol-resistant foam, dry chemical or carbon dioxide.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

no data available

5.3 Advice for firefighters

Wear self contained breathing apparatus for fire fighting if necessary.

5.4 Further information

Use water spray to cool unopened containers.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Use personal protective equipment. Avoid breathing vapours, mist or gas. Ensure adequate ventilation. Remove all sources of ignition. Evacuate personnel to safe areas. Beware of vapours accumulating to form explosive concentrations. Vapours can accumulate in low areas. For personal protection see section 8.

6.2 Environmental precautions

Prevent further leakage or spillage if safe to do so. Do not let product enter drains.

6.3 Methods and materials for containment and cleaning up

Contain spillage, and then collect with an electrically protected vacuum cleaner or by wet-brushing and place in container for disposal according to local regulations (see section 13).

6.4 Reference to other sections

For disposal see section 13.

7. HANDLING AND STORAGE

7.1 Precautions for safe handling

Avoid contact with skin and eyes. Avoid inhalation of vapour or mist. Keep away from sources of ignition - No smoking. Take measures to prevent the build up of electrostatic charge. For precautions see section 2.2.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Store in cool place. Keep container tightly closed in a dry and well-ventilated place. Containers which are opened must be carefully resealed and kept upright to prevent leakage.

Hygroscopic.

7.3 Specific end use(s)

A part from the uses mentioned in section 1.2 no other specific uses are stipulated

8. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION

8.1 Control parameters

Occupational Exposure Limits

Component	CAS-No.	Value	Control parameters	Basis
Ethanol	64-17-5	TWA	1,000 ppm 1,880 mg/m ³	Australia. Workplace Exposure Standards for Airborne Contaminants.
	Remarks	ACGIH is the documentation source		

8.2 Exposure controls

Appropriate engineering controls

Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice. Wash hands before breaks and at the end of workday.

Personal protective equipment

Eye/face protection

Face shield and safety glasses Use equipment for eye protection tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or EN 166(EU).

Skin protection

Handle with gloves. Gloves must be inspected prior to use. Use proper glove removal technique (without touching glove's outer surface) to avoid skin contact with this product. Dispose of contaminated gloves after use in accordance with applicable laws and good laboratory practices. Wash and dry hands.

The selected protective gloves have to satisfy the specifications of EU Directive 89/686/EEC and the standard EN 374 derived from it.

Full contact

Material: butyl-rubber

Minimum layer thickness: 0.3 mm

Break through time: 480 min

Material tested: Butoject® (KCL 897 / Aldrich Z677647, Size M)

Splash contact

Material: Nitrile rubber

Minimum layer thickness: 0.2 mm

Break through time: 38 min

Material tested: Dermatrik® P (KCL 743 / Aldrich Z677388, Size M)

data source: KCL GmbH, D-36124 Eichenzell, phone +49 (0)6659 87300, e-mail sales@kcl.de, test method: EN374

If used in solution, or mixed with other substances, and under conditions which differ from EN 374, contact the supplier of the CE approved gloves. This recommendation is advisory only and must be evaluated by an industrial hygienist and safety officer familiar with the specific situation of anticipated use by our customers. It should not be construed as offering an approval for any specific use scenario.

Body Protection

impervious clothing, Flame retardant antistatic protective clothing, The type of protective equipment must be selected according to the concentration and amount of the dangerous substance at the specific workplace.

Respiratory protection

Where risk assessment shows air-purifying respirators are appropriate use a full-face respirator with multi-purpose combination (US) or type ABEK (EN 14387) respirator cartridges as a backup to engineering controls. If the respirator is the sole means of protection, use a full-face supplied air respirator. Use respirators and components tested and approved under appropriate government standards such as NIOSH (US) or CEN (EU).

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

- | | |
|---------------|---|
| a) Appearance | Form: liquid, clear
Colour: colourless |
| b) Odour | no data available |

c) Odour Threshold	no data available
d) pH	no data available
e) Melting point/freezing point	Melting point/range: -114 °C - lit.
f) Initial boiling point and boiling range	78.3 °C
g) Flash point	14.0 °C - closed cup
h) Evaporation rate	no data available
i) Flammability (solid, gas)	no data available
j) Upper/lower flammability or explosive limits	Upper explosion limit: 19 %(V) Lower explosion limit: 3.3 %(V)
k) Vapour pressure	59.5 hPa at 20.0 °C
l) Vapour density	no data available
m) Relative density	0.789 g/mL at 20 °C 0.789 g/mL at 25 °C
n) Water solubility	completely soluble
o) Partition coefficient: n-octanol/water	no data available
p) Auto-ignition temperature	363.0 °C
q) Decomposition temperature	no data available
r) Viscosity	no data available
s) Explosive properties	no data available
t) Oxidizing properties	no data available

9.2 Other safety information
no data available

10. STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity

no data available

10.2 Chemical stability

Stable under recommended storage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

no data available

10.4 Conditions to avoid

Heat, flames and sparks. Extremes of temperature and direct sunlight.

10.5 Incompatible materials

Alkali metals, Ammonia, Oxidizing agents, Peroxides

10.6 Hazardous decomposition products

Other decomposition products - no data available
In the event of fire: see section 5

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION**11.1 Information on toxicological effects****Acute toxicity**

LD50 Oral - rat - 7,060 mg/kg

Remarks: Lungs, Thorax, or Respiration: Other changes.

LC50 Inhalation - rat - 10 h - 20000 ppm

Skin corrosion/irritation

Skin - rabbit

Result: Irritating to skin. - 24 h

Serious eye damage/eye irritation

Eyes - rabbit

Result: Mild eye irritation - 24 h

(Draize Test)

Respiratory or skin sensitisation

no data available

Germ cell mutagenicity

no data available

Carcinogenicity

Carcinogenicity - mouse - Oral

Tumorigenic: Equivocal tumorigenic agent by RTECS criteria. Liver: Tumors. Blood: Lymphomas including Hodgkin's disease.

IARC: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as probable, possible or confirmed human carcinogen by IARC.

Reproductive toxicity

Reproductive toxicity - Human - female - Oral

Effects on Newborn: Apgar score (human only). Effects on Newborn: Other neonatal measures or effects.

Effects on Newborn: Drug dependence.

Specific target organ toxicity - single exposure

no data available

Specific target organ toxicity - repeated exposure

no data available

Aspiration hazard

no data available

Additional Information

RTECS: KQ6300000

Central nervous system depression, narcosis, Damage to the heart., To the best of our knowledge, the chemical, physical, and toxicological properties have not been thoroughly investigated.

12. ECOLOGICAL INFORMATION**12.1 Toxicity**

no data available

12.2 Persistence and degradability

no data available

12.3 Bioaccumulative potential

no data available

Sigma-Aldrich - 459844

Page 6 of 8

12.4 Mobility in soil
no data available

12.5 Results of PBT and vPvB assessment
PBT/vPvB assessment not available as chemical safety assessment not required/not conducted

12.6 Other adverse effects
no data available

13. DISPOSAL CONSIDERATIONS

13.1 Waste treatment methods

Product

Burn in a chemical incinerator equipped with an afterburner and scrubber but exert extra care in igniting as this material is highly flammable. Offer surplus and non-recyclable solutions to a licensed disposal company.

Contaminated packaging

Dispose of as unused product.

14. TRANSPORT INFORMATION

14.1 UN number

ADR/RID: 1170	IMDG: 1170	IATA-DGR: 1170
---------------	------------	----------------

14.2 UN proper shipping name

ADR/RID: ETHANOL
IMDG: ETHANOL
IATA-DGR: Ethanol

14.3 Transport hazard class(es)

ADR/RID: 3	IMDG: 3	IATA-DGR: 3
------------	---------	-------------

14.4 Packaging group

ADR/RID: II	IMDG: II	IATA-DGR: II
-------------	----------	--------------

14.5 Environmental hazards

ADR/RID: no	IMDG Marine pollutant: no	IATA-DGR: no
-------------	---------------------------	--------------

14.6 Special precautions for user

no data available

15. REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

Standard for the Uniform Scheduling of Medicines and Poisons

no data available

Carcinogen classification under WHS Regulation 2011, Schedule 10

Not listed

Notification status

AICS:	On the inventory, or in compliance with the inventory
DSL:	All components of this product are on the Canadian DSL.
ENCS:	On the inventory, or in compliance with the inventory
IECSC:	On the inventory, or in compliance with the inventory
ISHL:	On the inventory, or in compliance with the inventory
KECI:	On the inventory, or in compliance with the inventory

Sigma-Aldrich - 459844

Page 7 of 8

NZIoC: On the inventory, or in compliance with the inventory
PICCS: On the inventory, or in compliance with the inventory

16. OTHER INFORMATION**Full text of H-Statements referred to under sections 2 and 3.**

Flam. Liq. Flammable liquids
H225 Highly flammable liquid and vapour.

Further information

Copyright 2013 Sigma-Aldrich Co. LLC. License granted to make unlimited paper copies for internal use only.

The above information is believed to be correct but does not purport to be all inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. Sigma-Aldrich Corporation and its Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product. See www.sigma-aldrich.com and/or the reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.



SAFETY DATA SHEET

Creation Date 22-Sep-2009

Revision Date 19-Jan-2018

Revision Number 3

1. Identification

Product Name 1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2
Cat No. : AC278800000; AC278800010; AC278800100
CAS-No 38701-74-5
Synonyms 1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanol-d2
Recommended Use Laboratory chemicals.
Uses advised against Not for food, drug, pesticide or biocidal product use

Details of the supplier of the safety data sheet

Company

Fisher Scientific
One Reagent Lane
Fair Lawn, NJ 07410
Tel: (201) 796-7100

Acros Organics
One Reagent Lane
Fair Lawn, NJ 07410

Emergency Telephone Number

For information **US** call: 001-800-ACROS-01 / **Europe** call: +32 14 57 52 11

Emergency Number **US**:001-201-796-7100 / **Europe**: +32 14 57 52 99

CHEMTREC Tel. No.**US**:001-800-424-9300 / **Europe**:001-703-527-3887

2. Hazard(s) identification

Classification

This chemical is considered hazardous by the 2012 OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

Acute oral toxicity	Category 4
Acute dermal toxicity	Category 4
Acute Inhalation Toxicity - Vapors	Category 4
Skin Corrosion/Irritation	Category 1
Serious Eye Damage/Eye Irritation	Category 1
Specific target organ toxicity (single exposure)	Category 3
Target Organs - Respiratory system.	

Label Elements

Signal Word

Danger

Hazard Statements

Harmful in contact with skin
Harmful if inhaled
Harmful if swallowed
Causes severe skin burns and eye damage
May cause respiratory irritation

1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2

Revision Date 19-Jan-2018

**Precautionary Statements****Prevention**

Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection
 Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling
 Use only outdoors or in a well-ventilated area
 Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapors/spray
 Do not get in eyes, on skin, or on clothing
 Do not eat, drink or smoke when using this product

Inhalation

IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing
 Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell

Skin

IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower
 Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician
 Wash contaminated clothing before reuse

Eyes

IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing
 Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician

Ingestion

Rinse mouth

IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell

Storage

Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed
 Store locked up

Disposal

Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant

Hazards not otherwise classified (HNOC)

None identified

3. Composition/Information on Ingredients

Component	CAS-No	Weight %
1,1,1,3,3,3-Hexafluoro[2-2H]propan-2-[2H]ol	38701-74-5	100

4. First-aid measures

Eye Contact	Rinse immediately with plenty of water, also under the eyelids, for at least 15 minutes. Immediate medical attention is required.
Skin Contact	Wash off immediately with plenty of water for at least 15 minutes. Immediate medical attention is required.
Inhalation	Move to fresh air. Obtain medical attention. If not breathing, give artificial respiration.
Ingestion	Do not induce vomiting. Obtain medical attention.
Most important symptoms and effects	Breathing difficulties. Inhalation of high vapor concentrations may cause symptoms like headache, dizziness, tiredness, nausea and vomiting
Notes to Physician	Treat symptomatically

1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2

Revision Date 19-Jan-2018

5. Fire-fighting measures

Suitable Extinguishing Media	Use extinguishing measures that are appropriate to local circumstances and the surrounding environment.
Unsuitable Extinguishing Media	No information available
Flash Point	No information available
Method -	No information available
Autoignition Temperature	No information available
Explosion Limits	
Upper	No data available
Lower	No data available
Sensitivity to Mechanical Impact	No information available
Sensitivity to Static Discharge	No information available

Specific Hazards Arising from the Chemical

Non-combustible.

Hazardous Combustion Products

Carbon monoxide (CO) Carbon dioxide (CO₂) Gaseous hydrogen fluoride (HF)

Protective Equipment and Precautions for Firefighters

As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand, MSHA/NIOSH (approved or equivalent) and full protective gear.

NFPA

Health
3Flammability
0Instability
0Physical hazards
N/A

6. Accidental release measures

Personal Precautions	Ensure adequate ventilation. Use personal protective equipment.
Environmental Precautions	See Section 12 for additional ecological information.

Methods for Containment and Clean Up Soak up with inert absorbent material (e.g. sand, silica gel, acid binder, universal binder, sawdust). Keep in suitable, closed containers for disposal.

7. Handling and storage

Handling	Ensure adequate ventilation. Wear personal protective equipment. Avoid contact with skin, eyes and clothing. Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapors/spray. Avoid ingestion and inhalation.
Storage	Keep in a dry, cool and well-ventilated place. Keep container tightly closed. Corrosives area.

8. Exposure controls / personal protection

Exposure Guidelines This product does not contain any hazardous materials with occupational exposure limits established by the region specific regulatory bodies.

Engineering Measures Ensure adequate ventilation, especially in confined areas. Ensure that eyewash stations and safety showers are close to the workstation location.

Personal Protective Equipment

Eye/face Protection Wear appropriate protective eyeglasses or chemical safety goggles as described by

1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2

Revision Date 19-Jan-2018

	OSHA's eye and face protection regulations in 29 CFR 1910.133 or European Standard EN166.
Skin and body protection	Wear appropriate protective gloves and clothing to prevent skin exposure.
Respiratory Protection	No protective equipment is needed under normal use conditions.
Hygiene Measures	Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice.

9. Physical and chemical properties

Physical State	Liquid
Appearance	Colorless
Odor	No information available
Odor Threshold	No information available
pH	No information available
Melting Point/Range	-4 °C / 24.8 °F
Boiling Point/Range	59 °C / 138.2 °F @ 760 mmHg
Flash Point	No information available
Evaporation Rate	No information available
Flammability (solid,gas)	Not applicable
Flammability or explosive limits	
Upper	No data available
Lower	No data available
Vapor Pressure	No information available
Vapor Density	No information available
Specific Gravity	1.640
Solubility	No information available
Partition coefficient; n-octanol/water	No data available
Autoignition Temperature	No information available
Decomposition Temperature	No information available
Viscosity	No information available
Molecular Formula	C3 D2 F6 O
Molecular Weight	170.05

10. Stability and reactivity

Reactive Hazard	None known, based on information available
Stability	Stable under normal conditions.
Conditions to Avoid	Incompatible products.
Incompatible Materials	Strong oxidizing agents
Hazardous Decomposition Products	Carbon monoxide (CO), Carbon dioxide (CO ₂), Gaseous hydrogen fluoride (HF)
Hazardous Polymerization	Hazardous polymerization does not occur.
Hazardous Reactions	None under normal processing.

11. Toxicological information

Acute Toxicity

Product Information	No acute toxicity information is available for this product
Component Information	
Toxicologically Synergistic Products	No information available
<u>Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure</u>	

1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2

Revision Date 19-Jan-2018

Irritation	Causes severe irritation and or burns														
Sensitization	No information available														
Carcinogenicity	The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.														
<table><tr><th>Component</th><th>CAS-No</th><th>IARC</th><th>NTP</th><th>ACGIH</th><th>OSHA</th><th>Mexico</th></tr><tr><td>1,1,1,3,3,3-Hexafluoro[2-2H]propan-2-[2H]ol</td><td>38701-74-5</td><td>Not listed</td><td>Not listed</td><td>Not listed</td><td>Not listed</td><td>Not listed</td></tr></table>	Component	CAS-No	IARC	NTP	ACGIH	OSHA	Mexico	1,1,1,3,3,3-Hexafluoro[2-2H]propan-2-[2H]ol	38701-74-5	Not listed	Not listed	Not listed	Not listed	Not listed	
Component	CAS-No	IARC	NTP	ACGIH	OSHA	Mexico									
1,1,1,3,3,3-Hexafluoro[2-2H]propan-2-[2H]ol	38701-74-5	Not listed	Not listed	Not listed	Not listed	Not listed									
Mutagenic Effects	No information available														
Reproductive Effects	No information available.														
Developmental Effects	No information available.														
Teratogenicity	No information available.														
STOT - single exposure	Respiratory system														
STOT - repeated exposure	None known														
Aspiration hazard	No information available														
Symptoms / effects,both acute and delayed	Inhalation of high vapor concentrations may cause symptoms like headache, dizziness, tiredness, nausea and vomiting														
Endocrine Disruptor Information	No information available														
Other Adverse Effects	The toxicological properties have not been fully investigated.														

12. Ecological information

Ecotoxicity

Do not empty into drains.

Persistence and Degradability	Persistence is unlikely based on information available.
Bioaccumulation/ Accumulation	No information available.
Mobility	Will likely be mobile in the environment due to its volatility.

13. Disposal considerations

Waste Disposal Methods Chemical waste generators must determine whether a discarded chemical is classified as a hazardous waste. Chemical waste generators must also consult local, regional, and national hazardous waste regulations to ensure complete and accurate classification.

14. Transport information

DOT

UN-No	UN3265
Proper Shipping Name	CORROSIVE LIQUID, ACIDIC, ORGANIC, N.O.S.
Proper technical name	(1,1,1,3,3,3-HEXAFLUORO-2-PROPANOL)
Hazard Class	8
Packing Group	II

TDG

UN-No	UN3265
Proper Shipping Name	CORROSIVE LIQUID, ACIDIC, ORGANIC, N.O.S.
Hazard Class	8
Packing Group	II

IATA

UN-No	3265
Proper Shipping Name	CORROSIVE LIQUID, ACIDIC, ORGANIC, N.O.S.*

1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2

Revision Date 19-Jan-2018

Hazard Class	8
Packing Group	II
IMDG/IMO	
UN-No	3265
Proper Shipping Name	CORROSIVE LIQUID, ACIDIC, ORGANIC, N.O.S.
Hazard Class	8
Packing Group	II

15. Regulatory information

International Inventories

Component	TSCA	DSL	NDSL	EINECS	ELINCS	NLP	PICCS	ENCS	AICS	IECSC	KECL
1,1,1,3,3,3-Hexafluoro[2-2H]propan-2-[2H]ol	-	-	-	254-091-9	-	-	-	-	-	-	-

Legend:

X - Listed

E - Indicates a substance that is the subject of a Section 5(e) Consent order under TSCA.

F - Indicates a substance that is the subject of a Section 5(f) Rule under TSCA.

N - Indicates a polymeric substance containing no free-radical initiator in its inventory name but is considered to cover the designated polymer made with any free-radical initiator regardless of the amount used.

P - Indicates a commenced PMN substance

R - Indicates a substance that is the subject of a Section 6 risk management rule under TSCA.

S - Indicates a substance that is identified in a proposed or final Significant New Use Rule

T - Indicates a substance that is the subject of a Section 4 test rule under TSCA.

XU - Indicates a substance exempt from reporting under the Inventory Update Rule, i.e. Partial Updating of the TSCA Inventory Data Base Production and Site Reports (40 CFR 710(B)).

Y1 - Indicates an exempt polymer that has a number-average molecular weight of 1,000 or greater.

Y2 - Indicates an exempt polymer that is a polyester and is made only from reactants included in a specified list of low concern reactants that comprises one of the eligibility criteria for the exemption rule.

U.S. Federal Regulations

TSCA 12(b) Not applicable

SARA 313 Not applicable

SARA 311/312 Hazard Categories See section 2 for more information

CWA (Clean Water Act) Not applicable

Clean Air Act Not applicable

OSHA Occupational Safety and Health Administration
Not applicable

CERCLA Not applicable

California Proposition 65 This product does not contain any Proposition 65 chemicals

U.S. State Right-to-Know
Regulations Not applicable

U.S. Department of Transportation

Reportable Quantity (RQ): N

DOT Marine Pollutant N

DOT Severe Marine Pollutant N

U.S. Department of Homeland Security

This product does not contain any DHS chemicals.

Other International Regulations

1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol-d2

Revision Date 19-Jan-2018

Mexico - Grade No information available

16. Other information

Prepared By Regulatory Affairs
Thermo Fisher Scientific
Email: EMSDS.RA@thermofisher.com

Creation Date 22-Sep-2009

Revision Date 19-Jan-2018

Print Date 19-Jan-2018

Revision Summary This document has been updated to comply with the US OSHA HazCom 2012 Standard replacing the current legislation under 29 CFR 1910.1200 to align with the Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (GHS).

Disclaimer

The information provided in this Safety Data Sheet is correct to the best of our knowledge, information and belief at the date of its publication. The information given is designed only as a guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other materials or in any process, unless specified in the text

End of SDS

SIGMA-ALDRICHsigma-aldrich.com**FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD**

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.0 Fecha de revisión 09.03.2015

Fecha de impresión 30.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa**1.1 Identificadores del producto**

Nombre del producto : Lipase from porcine pancreas

Referencia : SRE0049

Marca : Sigma

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 9001-62-1

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Quimica, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Aptdo. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros**2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla**

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.
Esta sustancia no está clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

2.2 Elementos de la etiqueta

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes**3.1 Sustancias**

No. CAS : 9001-62-1

No. CE : 232-619-9

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Se desconoce la naturaleza de los productos de la descomposición.

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.

Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Temperatura de almacenaje recomendada -20 °C

Sensible a la humedad.

Sigma - SRE0049

Página 2 de 6

Clase alemán de almacenamiento (TRGS 510): Sólidos No Combustibles

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Procedimiento general de higiene industrial.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: residuo liofilizado Color: amarillo claro
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	6,5 - 7,5 a 0,01 g/l
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Sin datos disponibles
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles
g) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido,	Sin datos disponibles

Sigma - SRE0049

Página 3 de 6

gas)		
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	ligeramente soluble
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Calor.

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

DL50 Intraperitoneal - Rata - 630 mg/kg

Observaciones: Conducta: Cambios en la actividad motora (ensayo específico) Pulmones, torax o Respiración: Estimulación respiratoria Hematológicos:: Hemorragia

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sigma - SRE0049

Página 4 de 6

Sensibilización respiratoria o cutánea

La exposición prolongada o repetida puede provocar reacciones alérgicas en algunos sujetos sensibles.

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: TO9776500

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12: Información ecológica**12.1 Toxicidad**

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte**14.1 Número ONU**

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa
IMDG: Not dangerous goods
IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.4 Grupo de embalaje

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

14.6 Precauciones particulares para los usuarios

Sin datos disponibles

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16: Otra información

Otros datos

Copyright 2015 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 453/2010
 Versión 5.2 Fecha de revisión 01.10.2015
 Fecha de impresión 22.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Solución salina tamponada con fosfato

Referencia : P4417

Marca : Sigma

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
 Ronda de Poniente, 3
 Aptdo. Correos 278
 E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
 +(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.2 Mezclas

Sinónimos : PBS

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Recomendaciones generales

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Oxidos de fósforo, Gas cloruro de hidrógeno, Óxidos de potasio, Oxidos de sodio

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evitar respirar el polvo. Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evítese la formación de polvo y aerosoles. Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

Sigma - P4417

Página 2 de 6

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Clase alemán de almacenamiento (TRGS 510): Sólidos No Combustibles

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

Indumentaria impermeable. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Para exposiciones molestas use respirador de partículas tipo P95 (EE.UU.) o tipo P1 (UE EN 143). Para un nivel de protección mayor use cartuchos de respirador tipo OV/AG/P99 (EE.UU.) o ABEK-P2 (UE EN 143). Usar respiradores y componenets testados y aprobados bajo los standards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|---|-----------------------|
| a) Aspecto | Forma: sólido |
| b) Olor | Sin datos disponibles |
| c) Umbral olfativo | Sin datos disponibles |
| d) pH | 7,2 - 7,6 a 25 °C |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación | Sin datos disponibles |
| f) Punto inicial de ebullición e intervalo de | Sin datos disponibles |

Sigma - P4417

Página 3 de 6

	ebullición	
g)	Punto de inflamación	No aplicable
h)	Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i)	Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes, Ácidos fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Cutáneo: Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Sigma - P4417

Página 4 de 6

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Vómitos, Diarrea, Una deshidratación y una congestión pueden ocurrir en los órganos internos. Las soluciones de sal hipertónicas pueden producir reacciones inflamatorias en el aparato gastrointestinal., Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12: Información ecológica**12.1 Toxicidad**

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte

- | | | | |
|-------------|---|---------------------------|----------|
| 14.1 | Número ONU
ADR/RID: - | IMDG: - | IATA: - |
| 14.2 | Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas | | |
| | ADR/RID: Mercancía no peligrosa | | |
| | IMDG: Not dangerous goods | | |
| | IATA: Not dangerous goods | | |
| 14.3 | Clase(s) de peligro para el transporte | | |
| | ADR/RID: - | IMDG: - | IATA: - |
| 14.4 | Grupo de embalaje | | |
| | ADR/RID: - | IMDG: - | IATA: - |
| 14.5 | Peligros para el medio ambiente | | |
| | ADR/RID: no | IMDG Marine pollutant: no | IATA: no |
| 14.6 | Precauciones particulares para los usuarios | | |
| | Sin datos disponibles | | |

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 453/2010.

- 15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla**
Sin datos disponibles
- 15.2 Evaluación de la seguridad química**
Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16: Otra información

Otros datos

Copyright 2015 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.1 Fecha de revisión 15.11.2011

Fecha de impresión 01.05.2018

1. IDENTIFICACIÓN DE LA SUSTANCIA O LA MEZCLA Y DE LA SOCIEDAD O LA EMPRESA**1.1 Identificadores del producto**

Nombre del producto : Polietilenglicol 35000

Referencia : 81310
Marca : Aldrich
No. CAS : 25322-68-3**1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados**

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridadCompañía : Sigma-Aldrich Quimica, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Apto. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRIDTeléfono : +34 91 6619977
Fax : +34 91 6619642
E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com**1.4 Teléfono de emergencia**Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)**2. IDENTIFICACIÓN DE LOS PELIGROS****2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla**No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.
Esta sustancia no está clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.**2.2 Elementos de la etiqueta**

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)**3. COMPOSICIÓN/INFORMACIÓN SOBRE LOS COMPONENTES****3.1 Sustancias**Sinónimos : PEG
Formula : (C2H4O)_nH2O**4. PRIMEROS AUXILIOS****4.1 Descripción de los primeros auxilios****Recomendaciones generales**

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhaladoSi aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.
Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lávese a fondo con agua abundante durante 15 minutos por lo menos y consulte al médico.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

sin datos disponibles

5. MEDIDAS DE LUCHA CONTRA INCENDIOS

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

sin datos disponibles

6. MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Utilícese equipo de protección individual. Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas. Asegúrese una ventilación apropiada. Evitar respirar el polvo.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Recoger y preparar la eliminación sin originar polvo. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

7. MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evítese la formación de polvo y aerosoles. Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

7.3 Usos específicos finales

sin datos disponibles

8. CONTROLES DE EXPOSICIÓN/ PROTECCIÓN INDIVIDUAL

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

Aldrich - 81310

Página 2 de 6

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Gafas de seguridad con protecciones laterales conformes con la EN166 Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser controlados antes de la utilización. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

indumentaria impermeable, El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Para exposiciones molestas use respirador de partículas tipo P95 (EE.UU.) o tipo P1 (UE EN 143). Para un nivel de protección mayor use cartuchos de respirador tipo OV/AG/P99 (EE.UU.) o ABEK-P2 (UE EN 143). Usar respiradores y componenetes testados y aprobados bajo los estandards gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

9. PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Estado físico: escamas Color: blanco
b) Olor	sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	sin datos disponibles
d) pH	sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Punto/intervalo de fusión: 64 - 66 °C
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	> 200 °C
g) Punto de inflamación	229,00 °C - copa cerrada
h) Tasa de evaporación	sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	sin datos disponibles
k) Presión de vapor	< 0,01 hPa a 20 °C
l) Densidad de vapor	sin datos disponibles
m) Densidad relativa	sin datos disponibles
n) Solubilidad en agua	sin datos disponibles
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	sin datos disponibles

Aldrich - 81310

Página 3 de 6

- | | | |
|----|---------------------------------|-----------------------|
| p) | Temperatura de auto-inflamación | sin datos disponibles |
| q) | Temperatura de descomposición | sin datos disponibles |
| r) | Viscosidad | sin datos disponibles |
| s) | Propiedades explosivas | sin datos disponibles |
| t) | Propiedades comburentes | sin datos disponibles |

9.2 Otra información de seguridad
sin datos disponibles

10. ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD

10.1 Reactividad
sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química
sin datos disponibles

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas
sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse
sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles
Ácidos fuertes, Bases fuertes, Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos
Otros productos de descomposición peligrosos - sin datos disponibles

11. INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA

11.1 Información sobre los efectos tóxicos

Toxicidad aguda
DL50 Oral - rata - > 15.000 mg/kg

Corrosión o irritación cutáneas
Piel - conejo - Ligera irritación de la piel - 24 h

Lesiones o irritación ocular graves
Ojos - conejo - Ligera irritación en los ojos - 24 h

Sensibilización respiratoria o cutánea
sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales
sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción
sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única
sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas
sin datos disponibles

Peligro de aspiración

sin datos disponibles

Efectos potenciales sobre la salud

Inhalación	Puede ser nocivo si se inhala. Puede provocar una irritación en el tracto respiratorio.
Ingestión	Puede ser nocivo si es tragado.
Piel	Puede ser nocivo si es absorbido por la piel. Puede provocar una irritación de la piel.
Ojos	Provoca una irritación en los ojos.

Signos y Síntomas de la Exposición

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

Información Adicional

RTECS: TQ3500000

12. INFORMACIÓN ECOLÓGICA**12.1 Toxicidad**

sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

sin datos disponibles

12.6 Otros efectos adversos

sin datos disponibles

13. CONSIDERACIONES RELATIVAS A LA ELIMINACIÓN**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada. Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

14. INFORMACIÓN RELATIVA AL TRANSPORTE**14.1 Número ONU**

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa
 IMDG: Not dangerous goods
 IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.4 Grupo embalaje

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

Aldrich - 81310

Pagina 5 de 6

14.6 Precauciones particulares para los usuarios
sin datos disponibles

15. INFORMACIÓN REGLAMENTARIA

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla
sin datos disponibles

15.2 Evaluación de la seguridad química
sin datos disponibles

16. OTRA INFORMACIÓN

Otros datos

Copyright 2011 Sigma-Aldrich. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. Sigma-Aldrich, no responderá por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Ver otros términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.2 Fecha de revisión 08.02.2016

Fecha de impresión 30.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Ácido poliláctico

Referencia

: 38534

Marca

: Aldrich

REACH No.

: Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS

: 26100-51-6

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Quimica, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Aptdo. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono

: +34 91 6619977

Fax

: +34 91 6619642

E-mail de contacto

: eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos : Poly(2-hydroxypropionic acid)

Peso molecular

: 60 kg/mol

No. CAS

: 26100-51-6

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.

Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Aldrich - 38534

Página 2 de 6

Almacenar en atmósfera inerte. Sensible a la humedad. Exposición a la humedad.
Clase alemán de almacenamiento (TRGS 510): Sólidos No Combustibles

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual

8.1 Parámetros de control

Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Procedimiento general de higiene industrial.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

a) Aspecto	Forma: sólido
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	Sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Sin datos disponibles
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles
g) Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido,	Sin datos disponibles

Aldrich - 38534

Página 3 de 6

	gas)	
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Aldrich - 38534

Página 4 de 6

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

SECCIÓN 12: Información ecológica**12.1 Toxicidad**

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte**14.1 Número ONU**

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.4 Grupo de embalaje

ADR/RID: -

IMDG: -

IATA: -

14.5 Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no

IMDG Marine pollutant: no

IATA: no

14.6 Precauciones particulares para los usuarios

Sin datos disponibles

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16: Otra información

Otros datos

Copyright 2016 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.1 Fecha de revisión 06.01.2015

Fecha de impresión 30.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : *Staphylococcus aureus*

Referencia : S2014

Marca : Sigma

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Aptdo. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

Clasificación de acuerdo con las Directivas de la UE 67/548/CEE ó 1999/45/CE

Xn Nocivo R21/22

El texto completo de las frases R mencionadas en esta Sección, se indica en la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta

De acuerdo con la Directiva Europea 67/548/CEE, y sus enmiendas.

Símbolo(s) de peligrosidad Xn Nocivo

Frase(s) - R
R21/22

Nocivo en contacto con la piel y por ingestión.

Frase(s) - S
S36/37

Úsense indumentaria y guantes de protección adecuados.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes**3.2 Mezclas****Ingredientes peligrosos de acuerdo con el Reglamento (CE) N° 1272/2008**

Componente	Clasificación	Concentración
Sodium azide		
No. CAS	26628-22-8	Acute Tox. 2; Acute Tox. 1; Aquatic Acute 1; Aquatic Chronic 1; H300 + H310, H410. EUH032
No. CE	247-852-1	
No. Índice	011-004-00-7	
>= 0,1 - < 0,25 %		

Ingrediente peligroso según la Directiva 1999/45/CE

Componente	Clasificación	Concentración
Sodium azide		
No. CAS	26628-22-8	T+, N, R27 - R28 - R32 - R50/53
No. CE	247-852-1	
No. Índice	011-004-00-7	
		>= 0,1 - < 0,25 %

Para el texto completo de las frases de Riesgo y Seguridad mencionadas en esta Sección, ver la Sección 16

SECCIÓN 4: Primeros auxilios**4.1 Descripción de los primeros auxilios****Recomendaciones generales**

Consultar a un médico. Mostrar esta ficha de seguridad al doctor que esté de servicio.

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial. Consultar a un médico.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua. Consultar a un médico.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consultar a un médico.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios**5.1 Medios de extinción****Medios de extinción apropiados**

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental**6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia**

Utilícese equipo de protección individual. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.
Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Sin datos disponibles

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento**7.1 Precauciones para una manipulación segura**

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado. Los contenedores que se abren deben volverse a cerrar cuidadosamente y mantener en posición vertical para evitar pérdidas.

Temperatura de almacenaje recomendada 2 - 8 °C

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual**8.1 Parámetros de control****Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.**

Componente	No. CAS	Valor	Parámetros de control	Base
Sodium azide	26628-22-8	TWA	0,1 mg/m3	Directiva 2000/39/CE de la Comisión por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos
	Observaciones	Identifica la posibilidad de una absorción importante a través de la piel Indicativo		
		STEL	0,3 mg/m3	Directiva 2000/39/CE de la Comisión por la que se establece una primera lista de valores límite de exposición profesional indicativos
		Identifica la posibilidad de una absorción importante a través de la piel Indicativo		
		VLA-ED	0,1 mg/m3	Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos - Tabla 1: Límites Ambientales de exposición profesional
		Vía dérmica Agente químico para el que la U.E. estableció en su día un valor límite indicativo. Todos estos agentes químicos figuran al menos en una de las directivas de valores límite indicativos publicadas hasta ahora (ver Anexo C. Bibliografía). Los estados miembros disponen de un tiempo fijado en dichas directivas para su trasposición a los		

Sigma - S2014

Página 3 de 8

		valores límites de cada país miembro. Una vez adoptados, estos valores tienen la misma validez que el resto de los valores adoptados por el país.
	VLA-EC	0,3 mg/m ³
		Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos - Tabla 1: Límites Ambientales de exposición profesional
		Vía dérmica Agente químico para el que la U.E. estableció en su día un valor límite indicativo. Todos estos agentes químicos figuran al menos en una de las directivas de valores límite indicativos publicadas hasta ahora (ver Anexo C. Bibliografía). Los estados miembros disponen de un tiempo fijado en dichas directivas para su trasposición a los valores límites de cada país miembro. Una vez adoptados, estos valores tienen la misma validez que el resto de los valores adoptados por el país.

8.2 Controles de la exposición

Controles técnicos apropiados

Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las prácticas de seguridad. Lávense las manos antes de los descansos y después de terminar la jornada laboral.

Protección personal

Protección de los ojos/ la cara

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

indumentaria impermeable. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Donde el asesoramiento de riesgo muestre que los respiradores purificadores de aire son apropiados, usar un respirador que cubra toda la cara con combinación multi-proposito (EEUU) o tipo ABEK (EN 14387) respiradores de cartucho de respuesta para controles de ingeniería. Si el respirador es la única protección, usar un respirador suministrado que cubra toda la cara Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas

9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas

- | | |
|--|-----------------------|
| a) Aspecto | Forma: suspensión |
| b) Olor | Sin datos disponibles |
| c) Umbral olfativo | Sin datos disponibles |
| d) pH | Sin datos disponibles |
| e) Punto de fusión/ punto de congelación | Sin datos disponibles |

Sigma - S2014

Página 4 de 8

f)	Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles
g)	Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h)	Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i)	Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad

Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

Otros productos de descomposición peligrosos - Sin datos disponibles
En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: No se identifica ningún componente de este producto, que presente niveles mayores que o igual a 0,1% como agente carcinógeno humano probable, posible o confirmado por la (IARC) Agencia Internacional de Investigaciones sobre Carcinógenos.

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12: Información ecológica

12.1 Toxicidad

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

La valoración de PBT / mPmB no está disponible ya que la evaluación de la seguridad química no es necesaria / no se ha realizado

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación

13.1 Métodos para el tratamiento de residuos

Producto

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte

- 14.1 Número ONU**
ADR/RID: 3373 IMDG: 3373 IATA: 3373
- 14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas**
ADR/RID: SUSTANCIA BIOLÓGICA, CATEGORÍA B
IMDG: BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B
IATA: Biological substance, Category B
- 14.3 Clase(s) de peligro para el transporte**
ADR/RID: 6.2 IMDG: 6.2 IATA: 6.2 (UN33)
- 14.4 Grupo de embalaje**
ADR/RID: - IMDG: - IATA: -
- 14.5 Peligros para el medio ambiente**
ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no
- 14.6 Precauciones particulares para los usuarios**
Sin datos disponibles

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química

SECCIÓN 16: Otra información**Texto íntegro de las Declaraciones-H referidas en las secciones 2 y 3.**

Acute Tox.	Toxicidad aguda
Aquatic Acute	Toxicidad acuática aguda
Aquatic Chronic	Toxicidad acuática crónica
EUH032	En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
H300 + H310	Mortal en caso de ingestión o en contacto con la piel
H410	Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

El texto completo de las frases-R referidas en los puntos 2 y 3

N	Peligroso para el medio ambiente
R21/22	Nocivo en contacto con la piel y por ingestión.
R27	Muy tóxico en contacto con la piel.
R28	Muy tóxico por ingestión.
T+	Muy tóxico
R32	En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.
R50/53	Muy tóxico para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático.

Otros datos

Copyright 2014 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación

Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.

SIGMA-ALDRICHsigma-aldrich.com**FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD**

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 453/2010

Versión 5.1 Fecha de revisión 11.09.2015

Fecha de impresión 30.04.2018

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa**1.1 Identificadores del producto**

Nombre del producto : Pseudomonas aeruginosa - WS QC

Referencia : QCMIC008

Marca : Sigma-Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridadCompañía : Sigma-Aldrich Química, S.L.
Ronda de Poniente, 3
Aptdo. Correos 278
E-28760 TRES CANTOS -MADRID

Teléfono : +34 91 6619977

Fax : +34 91 6619642

E-mail de contacto : eurtechserv@sial.com

1.4 Teléfono de emergenciaTeléfono de Urgencia : 900-868538 (CHEMTREC España)
+(34)-931768545 (CHEMTREC internacional)**SECCIÓN 2: Identificación de los peligros****2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla**

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

2.2 Elementos de la etiqueta

No es una sustancia o mezcla peligrosa.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores. Biopeligro, Bioseguridad Nivel 2, Grupo de riesgo 2: el agente biológico puede causar enfermedades humanas y podría ser un peligro para los trabajadores, pero es poco probable que se propague a la comunidad.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes**3.2 Mezclas**

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

SECCIÓN 4: Primeros auxilios

4.1 Descripción de los primeros auxilios

Si es inhalado

Si aspiró, mueva la persona al aire fresco. Si ha parado de respirar, hacer la respiración artificial.

En caso de contacto con la piel

Eliminar lavando con jabón y mucha agua.

En caso de contacto con los ojos

Lavarse abundantemente los ojos con agua como medida de precaución.

Si es tragado

Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua.

4.2 Principales síntomas y efectos, agudos y retardados

Los síntomas y efectos más importantes conocidos se describen en la etiqueta (ver sección 2.2) y / o en la sección 11

4.3 Indicación de toda atención médica y de los tratamientos especiales que deban dispensarse inmediatamente

Sin datos disponibles

SECCIÓN 5: Medidas de lucha contra incendios

5.1 Medios de extinción

Medios de extinción apropiados

Usar agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono.

5.2 Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla

Óxidos de carbono, Óxidos de nitrógeno (NOx)

Sin datos disponibles

5.3 Recomendaciones para el personal de lucha contra incendios

Si es necesario, usar equipo de respiración autónomo para la lucha contra el fuego.

5.4 Otros datos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 6: Medidas en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones personales, equipo de protección y procedimientos de emergencia

Evite la formación de polvo. Evitar respirar los vapores, la neblina o el gas.

Equipo de protección individual, ver sección 8.

6.2 Precauciones relativas al medio ambiente

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

6.3 Métodos y material de contención y de limpieza

Limpie y desinfecte todos los materiales para su eliminación, así como las superficies contaminadas, con un método de descontaminación eficaz como la esterilización en autoclave, incineración, o la desinfección química. Limpiar y traspalar. Guardar en contenedores apropiados y cerrados para su eliminación.

6.4 Referencia a otras secciones

Para eliminación de desechos ver sección 13.

SECCIÓN 7: Manipulación y almacenamiento

7.1 Precauciones para una manipulación segura

Debe disponer de extracción adecuada en aquellos lugares en los que se forma polvo.

Ver precauciones en la sección 2.2

7.2 Condiciones de almacenamiento seguro, incluidas posibles incompatibilidades

Almacenar en un lugar fresco. Conservar el envase herméticamente cerrado en un lugar seco y bien ventilado.

Temperatura de almacenaje recomendada 2 - 8 °C

Clase alemán de almacenamiento (TRGS 510): Materias infecciosas

7.3 Usos específicos finales

Aparte de los usos mencionados en la sección 1.2 no se estipulan otros usos específicos

SECCIÓN 8: Controles de exposición/protección individual**8.1 Parámetros de control****Componentes con valores límite ambientales de exposición profesional.**

No contiene sustancias con valores límites de exposición profesional.

8.2 Controles de la exposición**Controles técnicos apropiados**

Procedimiento general de higiene industrial.

Protección personal**Protección de los ojos/ la cara**

Use equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE).

Protección de la piel

Manipular con guantes. Los guantes deben ser inspeccionados antes de su uso. Utilice la técnica correcta de quitarse los guantes (sin tocar la superficie exterior del guante) para evitar el contacto de la piel con este producto. Deseche los guantes contaminados después de su uso, de conformidad con las leyes aplicables y buenas prácticas de laboratorio. Lavar y secar las manos.

Los guantes de protección seleccionados deben de cumplir con las especificaciones de la Directiva de la UE 89/686/CEE y de la norma EN 374 derivado de ello.

Protección Corporal

Elegir la protección para el cuerpo según sus características, la concentración y la cantidad de sustancias peligrosas, y el lugar específico de trabajo. El tipo de equipamiento de protección debe ser elegido según la concentración y la cantidad de sustancia peligrosa al lugar específico de trabajo.

Protección respiratoria

Protección respiratoria no requerida. Donde la protección sea deseada Usar respiradores y componentes testados y aprobados bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE)

Control de exposición ambiental

No se requieren precauciones especiales medioambientales.

SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas**9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas**

a) Aspecto	Forma: sólido
b) Olor	Sin datos disponibles
c) Umbral olfativo	Sin datos disponibles
d) pH	Sin datos disponibles
e) Punto de fusión/ punto de congelación	Sin datos disponibles
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	Sin datos disponibles

g)	Punto de inflamación	Sin datos disponibles
h)	Tasa de evaporación	Sin datos disponibles
i)	Inflamabilidad (sólido, gas)	Sin datos disponibles
j)	Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	Sin datos disponibles
k)	Presión de vapor	Sin datos disponibles
l)	Densidad de vapor	Sin datos disponibles
m)	Densidad relativa	Sin datos disponibles
n)	Solubilidad en agua	Sin datos disponibles
o)	Coefficiente de reparto n-octanol/agua	Sin datos disponibles
p)	Temperatura de auto-inflamación	Sin datos disponibles
q)	Temperatura de descomposición	Sin datos disponibles
r)	Viscosidad	Sin datos disponibles
s)	Propiedades explosivas	Sin datos disponibles
t)	Propiedades comburentes	Sin datos disponibles

9.2 Otra información de seguridad
Sin datos disponibles

SECCIÓN 10: Estabilidad y reactividad

10.1 Reactividad

Sin datos disponibles

10.2 Estabilidad química

Estable bajo las condiciones de almacenamiento recomendadas.

10.3 Posibilidad de reacciones peligrosas

Sin datos disponibles

10.4 Condiciones que deben evitarse

Sin datos disponibles

10.5 Materiales incompatibles

Agentes oxidantes fuertes

10.6 Productos de descomposición peligrosos

En caso de incendio: véase sección 5

SECCIÓN 11: Información toxicológica

11.1 Información sobre los efectos toxicológicos

Toxicidad aguda

Sin datos disponibles

Corrosión o irritación cutáneas

Sin datos disponibles

Lesiones o irritación ocular graves

Sin datos disponibles

Sigma-Aldrich - QCMIC008

Página 4 de 6

Sensibilización respiratoria o cutánea

Sin datos disponibles

Mutagenicidad en células germinales

Sin datos disponibles

Carcinogenicidad

IARC: 3 - Grupo 3: No clasificable como carcinogénico para los humanos (1-Ethenyl-2-pyrrolidinone homopolymer)

Toxicidad para la reproducción

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposición única

Sin datos disponibles

Toxicidad específica en determinados órganos - exposiciones repetidas

Sin datos disponibles

Peligro de aspiración

Sin datos disponibles

Información Adicional

RTECS: sin datos disponibles

Según nuestras informaciones, creemos que no se han investigado adecuadamente las propiedades químicas, físicas y toxicológicas.

SECCIÓN 12: Información ecológica**12.1 Toxicidad**

Sin datos disponibles

12.2 Persistencia y degradabilidad

Sin datos disponibles

12.3 Potencial de bioacumulación

Sin datos disponibles

12.4 Movilidad en el suelo

Sin datos disponibles

12.5 Resultados de la valoración PBT y mPmB

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

12.6 Otros efectos adversos

Sin datos disponibles

SECCIÓN 13: Consideraciones relativas a la eliminación**13.1 Métodos para el tratamiento de residuos****Producto**

Ofertar el sobrante y las soluciones no-aprovechables a una compañía de vertidos acreditada.

Envases contaminados

Eliminar como producto no usado.

SECCIÓN 14: Información relativa al transporte**14.1 Número ONU**

ADR/RID: 3373

IMDG: 3373

IATA: 3373

14.2 Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: SUSTANCIA BIOLÓGICA, CATEGORÍA B

IMDG: BIOLOGICAL SUBSTANCE, CATEGORY B

IATA: Biological substance, Category B

Sigma-Aldrich - QCMIC008

Página 5 de 6

14.3 Clase(s) de peligro para el transporte		
ADR/RID: 6.2	IMDG: 6.2	IATA: 6.2 (UN33)
14.4 Grupo de embalaje		
ADR/RID: -	IMDG: -	IATA: -
14.5 Peligros para el medio ambiente		
ADR/RID: no	IMDG Marine pollutant: no	IATA: no
14.6 Precauciones particulares para los usuarios		
Sin datos disponibles		

SECCIÓN 15: Información reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 453/2010.

15.1 Reglamentación y legislación en materia de seguridad, salud y medio ambiente específicas para la sustancia o la mezcla

Sin datos disponibles

15.2 Evaluación de la seguridad química

Para este producto no se ha llevado a cabo una evaluación de la seguridad química.

SECCIÓN 16: Otra información**Otros datos**

Copyright 2015 Sigma-Aldrich Co. LLC. Se autoriza la reproducción en número ilimitado de copias para uso exclusivamente interno.

La información indicada arriba se considera correcta pero no pretende ser exhaustiva y deberá utilizarse únicamente como orientación. La información contenida en este documento esta basada en el presente estado de nuestro conocimiento y es aplicable a las precauciones de seguridad apropiadas para el producto. No representa ninguna garantía de las propiedades del producto. La Corporación Sigma-Aldrich y sus Compañías Afiliadas, no responderán por ningún daño resultante de la manipulación o contacto con el producto indicado arriba. Dirijase a www.sigma-aldrich.com y/o a los términos y condiciones de venta en el reverso de la factura o de la nota de entrega.
